



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS DE ORIGEM VIRAL MAIS FREQUENTES NA COMUNIDADE

Trabalho submetido por
Afonso Gonçalves Tello de Castro
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Perpétua Gomes

Novembro de 2013

Agradecimentos

Deixo os mais sinceros agradecimentos à Professora Doutora Perpétua Gomes por toda a assistência, disponibilidade e orientação.

Agradeço também às equipas técnicas dos Serviços Farmacêuticos do hospital HPP José de Almeida e da Farmácia do Rosário por toda a prestabilidade, motivação, confiança e ensinamentos transmitidos. Em especial às doutoras Ana Sofia Carpinteiro e Ana Sofia Valongo pela amabilidade com que me receberam e pelo exemplo de excelência que me transmitiram.

Aos meus pais, Luís e Ana, e avós pelo carinho, apoio e por fazerem de mim o que sou sem nunca me impedirem de sonhar.

À minha namorada Maria e aos meus amigos e colegas do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz pelo apoio incondicional e carinho ao longo destes últimos anos.

À Cooperativa Egas Moniz pela qualidade do ensino e formação tanto a nível pessoal como profissional.

Resumo

As doenças respiratórias permanecem como a maior causa de mortalidade a nível mundial. Os vírus respiratórios são, já há muito, conhecidos microrganismos envolvidos em patologia humana e a sua prevalência e consequente importância têm vindo a aumentar nos últimos anos, sendo atualmente considerados como uma ameaça de saúde pública emergente. Este facto deve-se por um lado ao desenvolvimento de vacinas para os principais patógenos respiratórios bacterianos e por outro ao aparecimento e introdução clínica de métodos de deteção mais específicos e sensíveis, como as técnicas de amplificação genética.

A maioria vírus respiratórios humanos apresenta oscilações sazonais e são transmitidas dentro da espécie, podendo existir casos peculiares microrganismos zoonóticos que se tenham adaptado ao organismo humano. As famílias de vírus com maiores índices de morbilidade são a *Paramyxoviridae*, destacando-se o vírus respiratório sincicial e o parainfluenza humano, a *Orthomyxoviridae*, vírus influenza, e a família *Picornaviridae*, representada pelo rinovírus humano.

A terapêutica específica antiviral não sofreu grandes avanços nos últimos tempos, continuando a maioria dos tratamentos a ser sintomática. O uso de fármacos antivirais acarreta elevado risco de toxicidade com efeitos adversos severos, estando portanto o seu uso restrito para doentes com maiores fragilidades ou pior prognóstico.

Paravras-chave: Vírus respiratórios, infeção respiratória da comunidade, coinfeção, diagnóstico viral.

Abstract

Respiratory illnesses are the major cause of mortality worldwide. The respiratory viruses are, for a long time, known microorganisms involved in human pathology and their prevalence and consequent importance have increased in recent years, being considered, nowadays, as an emerging threat to public health security. This fact dues to the development of vaccines for the main bacterial respiratory pathogens and, on the other hand, to the discovery and clinical use of new detection techniques, more precise and sensitive, like the nucleic acid amplification.

Most human respiratory virus presents seasonal fluctuations and they are transmitted within species, existing the unusual probability of zoonotic microorganisms adapting to human organism. *Paramyxoviridae* – syncytial respiratory virus and human parainfluenza virus -, *Orthomyxoviridae* – influenza virus – and *Picornaviridae* – human rhinovirus – are the virus families with higher morbidity rates.

Antiviral specific therapeutic has not progressed much last years, and the treatment available keeps mainly symptomatic. The use of antiviral drugs deals with increased risk of toxicity and severe adverse effects, so their employ is restricted to patients with major weaknesses or poor prognosis.

Key-words: Respiratory virus, community respiratory infection, co infection, viral diagnosis.

Índice Remissivo

Agradecimentos	3
Resumo	5
Abstract.....	5
Índice Remissivo	7
Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	9
Lista de Abreviaturas.....	11
1. Introdução	13
2. Patologias	15
2.1. Bronquiolite	15
2.2. Pneumonia	17
2.3 SARS	20
2.4. Exacerbações da asma	21
2.5. Croupe.....	24
3. Métodos de Diagnóstico	26
3.1. Amostragem.....	28
3.2. Serologia	28
3.3. Cultura Viral	29
3.4. Imunoensaios/ Detecção Rápida de Antígenos	30
3.5. Amplificação Genética	31
4. Vírus Respiratórios	35
4.1. Influenza	36
4.2. Vírus Respiratório Sincicial.....	41
4.3. Adenovírus.....	42
4.5. Parainfluenza humano.....	44
4.5. Novos vírus/ Vírus Emergentes	45
4.5.1. Coronavírus.....	46

4.5.2 Metapneumovírus	48
4.5.3. Rinovírus.....	50
4.5.4. Bocavírus	53
4.6. Infecções múltiplas e Infecções mistas	54
5. Grupos Especiais	58
5.1. Crianças	58
5.2. Idosos	59
5.3. Doentes crónicos.....	59
5.4. Imunodeprimidos e transplantados	60
6. Terapêutica	63
6.1. Terapêutica Profilática	63
6.2. Terapêutica Hospitalar	64
7. Conclusão	66
Bibliografia.....	68

Índice de Figuras

Figura I – Número de episódios de pneumonia por criança cada ano por país	18
Figura II – Número de casos (em milhões) de pneumonia infantil adquirida na comunidade nos quinze países com maior prevalência	18
Figura III – Número de mortes (em milhares) por pneumonia adquirida na comunidade nos quinze países com maior mortalidade	18
Figura IV – Estudo epidemiológico esquemático referente às sazonalidades dos diferentes vírus nas regiões temperadas do hemisfério norte realizado em PCR.....	33
Figura V – Etiologia de infecções respiratórias inferiores num estudo de 154 crianças hospitalizadas	58
Figura VI – Caso de estudo relativo a infecções virais em 87 adultos com doença hematológica ou sujeitos a transplante medular	61

Índice de Tabelas

Tabela I – Estudos etiológicos relativamente a PAC virais.	20
Tabela II – Contribuição dos diferentes exames de diagnósticos no isolamento de vírus em PAC	27
Tabela II – Características epidemiológicas, patogénicas e de disseminação de alguns dos principais vírus respiratórios.....	35
Tabela III – Infecções mistas bactéria-vírus num universo de 304 indivíduos com CAP	55
Tabela IV – Infecções múltiplas virais num universo de 77 crianças com bronquiolite..	57
Tabela V – Administração, dosagem e efeitos adversos dos antivíricos no combate ao influenza	64

Lista de Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AdV	Adenovírus
ARN	Ácido Ribonucleico
BOVH	Bocavírus Humano
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HBoV	Bocavirus Humano
HcoV	Coronavirus Humano
IF	Imunofluorescência
IgG	Imunoglobulina humana G
IgM	Imunoglobulina humana M
Kg	Quilograma
Mg	Miligrama
MPVh	Metapneumovirus humano
MRT-PCR	<i>Multiplex Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
ND	Dados Não Disponíveis
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAC	Pneumonia Adquirida na Comunidade
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
RVH	Rinovírus humano
RVP	<i>Respiratory Virus Panel®</i>
SARS	Síndrome Agudo Respiratório Severo/ <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
SARS-CoV	Coronavirus responsável por Síndrome Agudo Respiratório Severo
SNC	Sistema Nervoso Central

UCI	Unidade de Cuidados Intensivos
UNICEF	<i>United Nations Illness Children Emergency Fund</i>
VIH	Vírus Imunodeficiência Humano
VPIH	Vírus Parainfluenza Humano
VRS	Vírus Respiratório Sincicial

1. Introdução

De acordo com os dados da OMS 2008 as infeções respiratórias virais são responsáveis por 3,5 milhões de mortes por ano e os seus custos económicos são elevados (Cevey-Machere *et al.*, 2009; WHO, 2009). Grande parte destes agentes são sazonais e assim sendo predominam nos meses de inverno, quando o frio é maior (Tadeu e Figueiredo, 2009).

As infeções respiratórias podem afetar tanto o trato respiratório superior como inferior e resultam maioritariamente numa doença leve a moderada com bom prognóstico podendo, por vezes, evoluir para casos mais graves e a colocar em risco a vida do hospedeiro, mesmo em adultos saudáveis; os extremos dos grupos etários, doentes crónicos com DPOC ou insuficiência cardíaca e grávidas são os grupos com mais risco de sofrer uma infeção viral. A sintomatologia é muito semelhante entre os diferentes vírus causadores de infeção respiratória, razão pela qual o diagnóstico etiológico com base apenas na clínica é muito difícil, havendo necessidade de recorrer a métodos de diagnóstico laboratorial. São responsáveis ainda por transmissão nosocomial em meios hospitalares (Carman e Mahony, 2007; Pavia, 2011; Tadeu e Figueiredo, 2009).

O uso clínico das técnicas moleculares de amplificação de ácidos nucleicos como técnica de diagnóstico alterou a preponderância clínica dos vírus - permitiu uma maior deteção destes microrganismos face aos métodos convencionais e, por outro lado, conduziu à identificação de novos agentes respiratórios, como é o caso dos rinovírus, coronavírus e metapneumovirus (Jennings *et al.*, 2008; Stempel *et al.*, 2009; B G van den Hoogen *et al.*, 2001; van der Hoek *et al.*, 2004).

O uso de vacinas tem uma eficácia comprovada na redução da morbilidade e mortalidade das doenças infecciosas, como é o caso do vírus influenza, razão pela qual têm sido o foco de investigação terapêutica nos últimos anos. Relativamente à descoberta de novas moléculas antivirais, poucos progressos foram feitos nas últimas duas décadas, estando o uso destes fármacos limitado – pela sua toxicidade – a casos graves ou em indivíduos de alto risco. “Tal não é a ironia que nesta era de transplante de órgãos, engenharia genética e de outras demonstrações das maravilhas da medicina não sejamos ainda capazes de mostrar uma ligeira melhoria no combate a uma das doenças mais triviais, a constipação” (White e Fenner, 1994).

Esta dissertação pretende fazer uma revisão bibliográfica relativa aos vírus respiratórios mais prevalentes na comunidade e as patologias a si associadas com maiores índices de morbilidade, hospitalização e mortalidade nas últimas décadas, assim como aos avanços feitos na área do diagnóstico/identificação e terapêutica.

2. Patologias

As propriedades específicas de cada vírus e a sua taxa de replicação são fatores que vão condicionar a magnitude da resposta imunitária, que por sua vez, é responsável pelos sintomas clínicos do paciente. A exposição ou *challenge* ao antigénio vai gerar uma alteração na homeostasia do tecido respiratório (Hussell *et al.*, 2012).

O epitélio respiratório é naturalmente pouco reativo às exposições antigénicas, contudo situações clínicas subjacentes podem alterar este estado e exponenciar a inflamação decorrente da infeção viral (Peiris, *et al.*, 2009).

As infeções do trato respiratório inferior são uma causa grave de morbilidade e mortalidade em crianças, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde o risco de morte pode ser 30 vezes superior face aos países desenvolvidos (Organización Panamericana de la Salud, 1995).

2.1. Bronquiolite

Patologia pediátrica clássica, de etiologia exclusivamente viral, que afeta crianças até aos dois anos de idade. Doença autolimitada e com a taxa de mortalidade abaixo de 1%. Nos EUA é a causa mais comum de internamento nos lactentes e tem um custo associado na ordem dos 500 milhões de dólares (Carvalho *et al.*, 2007; Stempel *et al.*, 2009; Village, 2006; WHO, 2009; Yorita *et al.*, 2008).

Processo infeccioso no sistema respiratório, cujo agente mais comum é o vírus sincicial respiratório (VRS) – durante o seu pico epidémico, entre o outono e o inverno, é responsável por 43 a 74% dos casos. Outros vírus como o rinovírus, o metapneumovirus, o parainfluenza, o influenza e o adenovírus são também responsáveis por causar bronquiolite, clinicamente indistinguíveis umas das outras (Carvalho *et al.*, 2007; Holman *et al.*, 2003; Pavia, 2011; Stempel *et al.*, 2009).

O seu processo fisiopatológico caracteriza-se pela infeção e inflamação da mucosa respiratória com hiperprodução de muco, formação de edema, necrose epitelial e consequente obstrução das vias aéreas inferiores e broncospasmo. Inicialmente a sintomatologia começa com rinorreia, tosse, dispneia e possível febre ligeira que evolui para tosse profunda com sibilos, quando a infeção atinge o trato respiratório inferior. Nos casos de maior gravidade o doente pode apresentar estados apneicos exigindo um

maior esforço respiratório persistente havendo, na maioria destes casos, necessidade de suplementação de oxigênio (Carvalho *et al.*, 2007; Holman *et al.*, 2003; Stempel *et al.*, 2009).

Pela ausência de imunidade para os agentes em causa e menor calibre das suas vias aéreas lactentes têm uma grande predisposição para desenvolver bronquiolite (Carvalho *et al.*, 2007; McCarthy e Hall, 2003).

Na sua terapêutica o uso de fármacos broncodilatadores, anticolinérgicos, corticoides e da adrenalina é controverso e ainda não está bem estabelecido. Os agonistas adrenérgicos alfa e beta ainda não provaram resultados consistentes para esta patologia, podendo em alguns casos esporádicos melhorar ligeiramente o prognóstico clínico do doente – o salbutamol, fármaco mais utilizado, não demonstrou reduzir o período da doença e nem o tempo de hospitalização (Gadomski e Brower, 2010; Schweich *et al.*, 1992). A adrenalina poderá ter algum potencial na redução do edema e broncospasmo e, apesar dos bons resultados face ao salbutamol, as suas melhorias não foram significativas para a sua indicação explícita (Barr *et al.*, 2000; Derish *et al.*, 1998; Hartling *et al.*, 2003; Wainwright *et al.*, 2003). Tanto para os agonistas beta-2 como a adrenalina têm efeitos adversos a considerar, mas é aceitável administrá-los e avaliar a resposta do paciente (Village, 2006). Os fármacos corticosteroides são muito utilizados – em 60% dos casos (Behrendt *et al.*, 1998) – não havendo provas científicas para suportar o seu uso – apesar da sua indicação teórica no processo anti-inflamatório, não se verificaram benefícios claros para uma classe de fármacos com muitos efeitos adversos (Behrendt *et al.*, 1998; van Woensel *et al.*, 1997). O uso da ribavirina aerossolizada é também controverso pelos efeitos adversos para o paciente e prestadores de cuidados de saúde e pelo seu custo, estando reservado para casos graves ou com risco de desenvolver doença grave como os doentes cardíacos e imunodeprimidos (Carvalho *et al.*, 2007; Rodriguez *et al.*, 1987). O uso de antibacterianos só deve ser utilizado quando confirmada a coexistência de uma infeção bacteriana, devendo ser evitado o seu uso como agente profilático (Greenes e Harper, 1999).

A DNase recombinante humana tem revelado ser uma escolha terapêutica interessante e o seu mecanismo assenta na degradação do ADN presente nos leucócitos e nas células mortas, o que por sua vez reduz a viscosidade e a aderência das secreções pulmonares (Nasr *et al.*, 2001). A fisioterapia respiratória também melhora a função pulmonar do paciente, estimulando a desobstrução brônquica e a desinsuflação pulmonar (Bohé *et al.*, 2004; Webb *et al.*, 1985).

Para profilaxia, recomendam-se cinco doses mensais de anticorpos monoclonais, *palivizumab*, a 15mg/kg de peso corporal por dose, administradas nos meses de prevalência do VRS começando a terapêutica em novembro ou dezembro. Pelo elevado custo está indicado para crianças até aos dois anos que tenham nascido prematuros até às 32 semanas de gravidez ou com problemas pulmonares crónicos com necessidade de intervenção médica prévia (American Academy of Pediatrics, 2012).

2.2. Pneumonia

A pneumonia é uma das maiores causas de morbilidade e a maior de mortalidade infantil em todo o Mundo (mata cerca de 1,2 milhões de crianças com menos de cinco anos anualmente) e é especialmente incidente nas crianças dos países em desenvolvimento – nestes países é responsável por 151 milhões dos 156 milhões de casos infantis anuais e por cada criança que morre nos países desenvolvidos devido a pneumonia, 2 000 morrem em países em desenvolvimento pela mesma causa (UNICEF, 2012) - e em idosos nos países desenvolvidos (Rudan *et al.*, 2008). Desconhece-se a sua incidência em Portugal, admitindo-se entre 50 e 100 mil casos anuais (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003). Os quinze países com maior incidência de pneumonia adquirida na comunidade (PAC) são responsáveis por 74% dos casos globais e os cinco mais incidentes por metade dos casos totais (Figura I) – estes países por norma possuidores de menores recursos apresentam também as taxas de mortalidade mais acentuadas (tabela II). A subnutrição, ao enfraquecer o sistema imunitário, as patologias pré-existentes como o VIH, a poluição ambiental, os fumos tóxicos e a sobrepovoamento de algumas regiões são os principais fatores de risco para a contração de pneumonia (McCracken, 2000; Rudan *et al.*, 2008; Ruuskanen *et al.*, 2011; WHO, 2013).

Figura I – Número de episódios de pneumonia por criança cada ano por país, adaptado de Rudan *et al.*, 2008

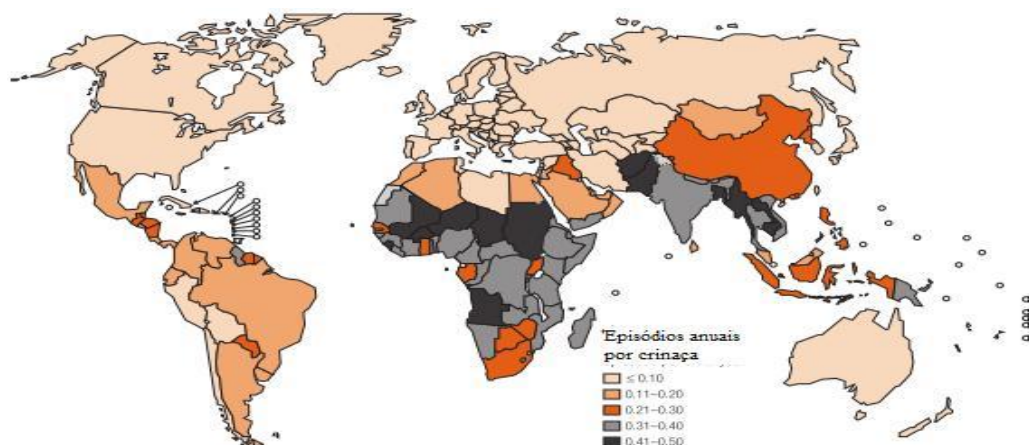


Figura II – Número de casos (em milhões) de pneumonia infantil adquirida na comunidade nos quinze países com maior prevalência, adaptado de Rudan *et al.*, 2008

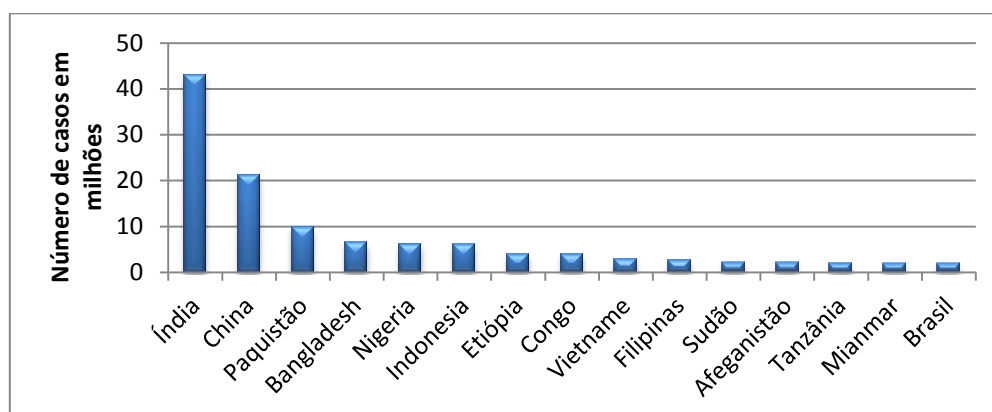
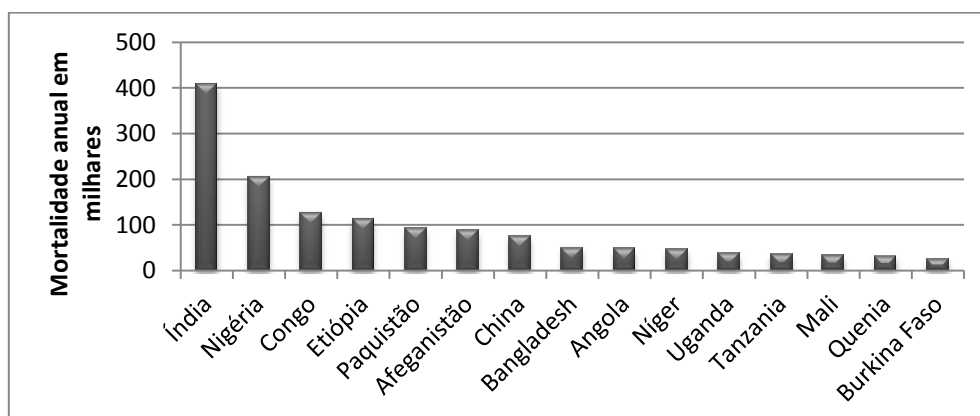


Figura III – Número de mortes (em milhares) por pneumonia adquirida na comunidade nos quinze países com maior mortalidade, adaptado de Rudan *et al.*, 2008



Define-se PAC como uma inflamação aguda no parênquima pulmonar de origem infecciosa. O seu quadro clínico tem diferentes formas e intensidades podendo variar de formas leves e autolimitadas até às mais graves (7-13%) que requerem internamento nos

serviços de Cuidados Intensivos e ventilação assistida (Galeno *et al.*, 2013; Rudan *et al.*, 2008). O diagnóstico de PAC é feito quando ocorre num doente não hospitalizado à mais de sete dias ou nas primeiras 48 horas de internamento em conjunto com os sinais e sintomas clássicos de infeção respiratória: febre, tosse, presença ou não de expetoração e/ou dor torácica, taquipneia ou dispneia, e alterações da auscultação pulmonar com crepitações, juntamente com as observações radiológicas de infiltrados ou condensados pulmonares (Direção Geral da Saúde, 2012; McPhee *et al.*, 2011).

As bactérias são os microrganismos mais identificados na pneumonia com o *Streptococcus pneumoniae* a ocupar um lugar de destaque (Jennings *et al.*, 2008). As técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos vieram salientar a importância dos vírus na etiologia da PAC que estava subestimada até então – os influenza A e B, causa viral mais comum de PAC, o parainfluenza, o VRS, o metapneumovirus humano e o adenovírus são os vírus mais prevalentes – Tabela I (Tsolia *et al.*, 2004) – estes são causas importantes de pneumonia em crianças e lactentes e adultos, crê-se que sejam responsáveis por 23 a 56% dos casos de PAC neste último grupo (Jennings *et al.*, 2008; Marcos *et al.*, 2006; Samransamruajkit *et al.*, 2008; Templeton *et al.*, 2005).

O diagnóstico etiológico continua a ser uma problemática para o seu correto tratamento, estimando-se que apenas 50% dos casos tenha um agente microbiológico associado. Em Portugal, estes estudos são escassos ou mesmo não realizados – são identificados os microrganismos em 13% dos casos (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003). O rinovírus estando por vezes associado a situações de pneumonia é, por outro lado, muito frequentemente identificado em indivíduos assintomáticos (Jartti *et al.*, 2008; Mackay, 2008).

Nas crianças com menos de cinco anos as viroses são mais comuns (dois terços dos episódios ocorrem nestas idades) e as pneumonias causadas por agentes atípicos mais frequentes a partir dos cinco anos; o *Streptococcus pneumoniae* é transversal a todas as faixas etárias (Don *et al.*, 2009; Woods e Bryant, 2013). Estes dados apontam para que as idades inferiores sejam um fator preditor de PAC com etiologia viral, uma vez que 86% das infeções virais respiratórias ocorre nas crianças com menos de cinco anos (Don *et al.*, 2009).

A idade avançada, o sexo masculino e a infeção mista entre rinovírus e o *S. pneumoniae* são fatores que, independentemente, estão associados com uma maior severidade da pneumonia (Jennings *et al.*, 2008).

Tabela I – Estudos etiológicos relativamente a PAC virais, adaptado de Tadeu e Figueiredo, 2009.

	Nova-Zelândia (n=300)	Espanha (n=338)	Grécia (n=75 crianças)	Holanda (n=107 idosos)
Frequência	28%	18%	N.D.	N.D.
Influenza A	8%	44%	7%	13%
Influenza B	2%	16%	N.D.	N.D.
VRS	4%	8,2%	3%	1%
Rinovírus	10%	N.D.	45%	3%
Parainfluenza	1%	18%	8%	1%
Adenovírus	4%	8,2%	12%	0,5%

2.3 SARS

Síndrome Agudo Respiratório Severo ou SARS é uma infeção emergente causada por um coronavírus, o SARS-coronavírus. Considerada a primeira pandemia do século XXI, foi responsável por surtos de pneumonia atípica no sudeste asiático, América do Norte e Europa, tendo surgido em novembro de 2002, na província de Guan dong, China (Peng *et al.*, 2003). O surto pandémico resultou em 8096 casos com 774 mortes, o que prediz uma taxa de mortalidade perto dos 10%, sendo muito maior para indivíduos com idades mais avançadas – 55% (WHO, 2004). Ainda não foi descoberto o seu hospedeiro natural (Guan *et al.*, 2003).

O SARS-coronavírus caracteriza-se por infetar as células epiteliais do trato respiratório, por infetar diretamente as células imunitárias e inibir o sistema protetivo pulmonar da enzima conversora de angiotensina-2. A sintomatologia começa geralmente com febres altas e sintomas respiratórios moderados que rapidamente progridem para pneumonia, podendo nos casos mais graves desenvolver dano alveolar difuso (10 a 14 dias). Entre 20 a 30% dos doentes necessitaram de internamento na unidade de Cuidados Intensivos e ventilação mecânica (Peiris *et al.*, 2003). Análises *post-mortem* indicaram edema alveolar com focos hemorrágicos e fibrose tecidular (Tsang *et al.*, 2003). De salientar que o SARS coronavírus apesar de se manifestar através do dano no aparelho respiratório, a sua patogénese está intimamente relacionada com o sistema imunitário (Gu e Korteweg, 2007; Leung *et al.*, 2004).

Doença severa transmissível entre pessoas e que teve uma elevada incidência sobre as equipas prestadoras de cuidados de saúde (Anon, 2003). Não foram detetados anticorpos específicos em nenhum dos doentes internados, o que sugere que seja a

primeira forma humana do vírus – contudo, a sua sequenciação aponta para que se trate eventualmente de um vírus circulante interespecie que se adaptou ao organismo humano (Zhong *et al.*, 2003). O SARS coronavírus tem pouca homologia com os restantes coronavírus (Marra *et al.*, 2003).

É importante tomar providências de isolamento para os pacientes com suspeita de SARS e para os profissionais de saúde, devido ao risco acrescido de contraírem o síndrome - devem ter especial atenção ao aparecimento de febre e sintomas de SARS, tanto em si como nos seus familiares e amigos (Tsang *et al.*, 2003).

No estudo epidemiológico de Tsang e colaboradores foi feito um estudo caso sobre dez pacientes com SARS relativo à sua transmissão. Houve transmissão ao profissionais de saúde, inclusive aos que usavam objetos barreira como máscaras cirúrgicas e luvas. Deste estudo relativo a 10 doentes, dois acabaram por falecer e com exceção de um caso, todos ficaram com sequelas pulmonares (Tsang *et al.*, 2003).

A terapêutica recomendada é empírica e resulta da terapia de suporte juntamente com um agente antivírico de largo espectro, a ribavirina intravenosa, associada a doses intensivas de corticoides - pulsos (Tsang *et al.*, 2003). Estudos *in vitro* demonstraram que a atividade citopática do SARS coronavírus é inibida por concentrações de lopinavir e ribavirina a 4 e 50 microgramas por mililitro, respetivamente. *In vivo*, os esfregaços nasais demonstraram uma queda progressiva da carga viral e uma convalescença mais rápida para os pacientes sujeitos a esta terapêutica. É necessário abordar este assunto de uma forma mais extensiva (Chu *et al.*, 2004). A formação de anticorpos IgG e IgM apareceu 14 dias após o aparecimento dos sintomas (Shi e Song, 2006).

2.4. Exacerbações da asma

A asma pode apresentar vários fenótipos com diferentes fatores de risco e suscetibilidade a exacerbações induzidas por vírus. Há provas sólidas que poderão estar associadas com infeções respiratórias por alguns vírus – nomeadamente o rinovírus e o VRS mas também coronavírus, parainfluenza humano, enterovírus, metapneumovirus e bocavírus - muito possivelmente pelas alterações a curto ou médio-longo prazo na função pulmonar que causam e pelo aumento de suscetibilidade aos alérgenos que criam no trato respiratório (Couriel, 2002; Rylander *et al.*, 1996; Sigurson *et al.*, 2000).

Há fatores do hospedeiro que preestabelecem uma correlação entre infecção respiratória em idades precoces com o aparecimento de episódios persistentes de sibilos e o desenvolvimento de asma. Estes fatores não devem ser ignorados – baixos volumes pulmonares à nascença (especial atenção aos prematuros), estados atópicos, intensidade de resposta a infeções e hiperreatividade pulmonar (Tortorolo *et al.*, 2005).

O aparecimento de sibilos em crianças (indicador de bronquiolite infantil) é um fator de risco para o aparecimento de asma (Busse *et al.*, 2010). Estudos apontam para que a combinação da genética com os fatores ambientais seja determinante para o desenvolvimento da asma – estes dados corroboram que tanto as crianças com maior risco de desenvolverem bronquiolites graves como aquelas com historial alérgico/atópico/asmático na família são as mais suscetíveis de desenvolverem a doença (Wu *et al.*, 2008). Até aos seis anos, um historial de duas infeções respiratórias com presença de sibilos quadruplica a probabilidade da criança vir a desenvolver asma (Kusel *et al.*, 2007).

Em 85% das crises asmáticas em crianças e 50% em adultos foi detetada uma infeção viral no trato respiratório. O VRS é mais prevalente em crianças com menos de dois anos ao passo que o RVH é mais prevalente em crianças maiores que dois anos e adultos (S. L. Johnston *et al.*, 1995; Nicholson *et al.*, 1993; Rakes *et al.*, 1999). Os doentes asmáticos têm aumentada a expressão de uma molécula de adesão denominada ICAM-1 nas células epiteliais face aos restantes indivíduos e, esta mesma molécula é também o recetor de superfície para os rinovírus, o que torna estes indivíduos mais suscetíveis à infeção do rinovírus ao permitir uma maior entrada e replicação viral na célula e assim aumentar a severidade da doença (Bentley *et al.*, 1993).

Os rinovírus têm uma responsabilidade considerável no que refere à patologia respiratória pediátrica e particularmente em crianças asmáticas (Jartti *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2007; Tan, 2005). Num estudo de Miller e associados revelou que 35% das crianças positivas para rinovírus tinham história prévia de asma, ao passo que no grupo das crianças rinovírus negativas este valor era de 18,8% (Miller *et al.*, 2007). Setembro é o mês em que os internamentos por crises asmáticas são mais numerosos e coincide com o início do pico sazonal dos rinovírus do grupo C (RVHC) (N. W. Johnston *et al.*, 2005; Sears e Johnston, 2007).

Os RVHC, com uma prevalência de 50% de todos os casos identificados de rinovírus, predispõem as crianças infetadas por este grupo a maiores riscos que as colonizadas pelos restantes grupos de rinovírus, A e B. O diagnóstico de asma foi

significativamente maior para o grupo de crianças RVHC positivas – 54.6% face aos 35.9% dos restantes grupos (Miller *et al.*, 2009).

As crianças que desenvolvem bronquiolite pelo vírus respiratório sincicial têm um maior risco de vir a desenvolver sibilos recorrentes e asma durante a infância (Everard, 2006). Ainda não é claro se a infeção pelo VRS tem uma ação direta na asma ou se existe já uma predisposição conjunta para o desenvolvimento de asma e contração de uma infeção por VRS. A infeção por VRS está associada com a deterioração do sistema respiratório no que toca à sua função, aumentando a probabilidade de sibilos e tornando as vias aéreas hipereflexivas às exposições antigénicas (Singh, Moore, Gern, Lemanske, & Hartert, 2007). O estatuto socioeconómico, a amamentação materna, a dieta, a exposição a fumos são fatores importantes no desenvolvimento de infeções por VRS e asma (Kurz e Ober, 2004; Oddy, 2004).

Um estudo de Thomsen e colaboradores relativo a todos os gémeos nascidos na Dinamarca entre 1994 e 2000 ligados a casos de asma, revelou que a infeção pelo vírus respiratório sincicial está significativamente relacionada com asma. As infeções graves causadas por este agente não são causa direta de asma, mas sim um indicador de predisposição genética para a desenvolver (Thomsen *et al.*, 2009).

As crianças asmáticas ou com história de atopia hereditária, quando comparadas com as não asmáticas, têm também maior tendência para desenvolver casos mais severos de bronquiolite aguda (Goetghebuer *et al.*, 2004; Stensballe *et al.*, 2006). As infeções virais enfraquecem o epitélio respiratório e a barreira que este representa, estando assim o organismo mais suscetível aos estímulos antigénicos (Sakamoto *et al.*, 1984) - nos estados atópicos a resposta *in situ* do organismo às infeções respiratórias virais está também alterada, podendo os vírus, através dos seus processos infecciosos, despoletar no organismo uma maior suscetibilidade aos alérgenos, o que gera um ciclo vicioso de sensibilização (Lemanske *et al.*, 1989; Skoner *et al.*, 1996).

Ainda não está bem explícito como, ao certo, é que uma infeção respiratória pode induzir crises de asma (Busse *et al.*, 2010). Há autores que defendem que os indivíduos asmáticos têm uma atividade imunitária antivírica mais reduzida comparados aos restantes, nomeadamente na produção de citocinas, moléculas interferão alfa, beta e épsilon, entre outros (Parry *et al.*, 2000). Outros autores defendem que existe uma relação antagónica entre o estado inflamatório e a atividade antivírica (Tversky *et al.*, 2008), ao passo que outros ainda, sustentam a hipótese que tanto os processos infecciosos dos vírus respiratórios, como os processos inflamatórios relacionados com a exposição

alergénica estão conjuntamente implícitos na severidade das crises asmáticas (Subrata *et al.*, 2009).

2.5. Croupe

Síndrome agudo respiratório com baixa mortalidade que pode ser classificado como laringotraqueíte, laringotraqueobronquite ou laringotraqueobroncopneumonia consoante os órgãos afetados (Knutson e Aring, 2004; Segal *et al.*, 2005). Existe também um outro modelo de crupe, crupe espasmódica ou recorrente e está associada a reações alérgicas e hipersensíveis do hospedeiro aos antígenos virais (Ottolini, *et al.*, 2002). Mais comum em crianças do sexo masculino e ocorre geralmente entre os seis meses e os doze anos de idade, sendo o pico no segundo ano de vida e durante os meses de outubro - é responsável por 15% das infeções respiratórias em crianças nos serviços de ambulatório (Sobol e Zapata, 2008; Westley *et al.*, 1978).

O vírus parainfluenza humano (VPIH) é o agente com maior preponderância no desenvolvimento de crupe, com 50 a 75% dos doentes a revelarem os vírus parainfluenza 1 e 3 como agentes etiológicos - só uma pequena porção dos indivíduos colonizados desenvolvem efetivamente o síndrome, e destes, apenas 1 a 8% dos casos (os moderados a graves) necessitam de hospitalização (Ottolini *et al.*, 2002; Rihkanen *et al.*, 2008; Rosychuk *et al.*, 2010). O VPIH-1 é o único referido em surtos de natureza bienal e aumenta em cerca de 37% o número de hospitalizações por crupe nos meses de outono de cada ano alternado (Marx *et al.*, 1997). Também o enterovírus, o bocavírus, os influenza A e B, o vírus respiratório sincicial, o rinovírus e o adenovírus são agentes etiológicos deste síndrome (Pavia, 2011). Outra causa relacionada é o refluxo gastroesofágico, com os doentes a melhorarem consideravelmente com o tratamento do refluxo (Hoa *et al.*, 2008).

O processo fisiopatológico consiste na inflamação das vias aéreas superiores resultando na obstrução da laringe e traqueia. Deste modo a sua sintomatologia inicia-se com febre baixa e rinite evoluindo nas 12 a 72 horas seguintes para as características inspiração e tosse estridulosa, disfonia e grau variável de dificuldade respiratória com adejo nasal e tiragem dos músculos intercostais. Normalmente os sintomas duram cerca de dois dias, podendo ir até uma semana nos casos mais severos (Sobol e Zapata, 2008). O baixo calibre das vias aéreas e a imaturidade imunitária das crianças torna-as muito

mais suscetíveis à obstrução pulmonar (Miyairi e DeVincenzo, 2008). Os sintomas geralmente pioram à noite, com a insónia e agitação da criança (Bjornson e Johnson, 2008).

A infeção bacteriana surge secundariamente e piora consideravelmente os sintomas respiratórios, com aumento da febre e não-resposta ao tratamento clássico para crupe (Wald, 2010).

Os corticosteroides reduzem o edema laríngeo e são uma terapêutica eficaz com melhorias notórias seis horas após o seu emprego. A administração é feita de forma oral ou intramuscular, uma vez que a sua inalação não traz uma melhora significativa para os pacientes – geralmente é administrada a dexametasona pelo seu longo tempo de semivida, a 0,60mg/ kg de peso corporal (Luria *et al.*, 2001; Russell *et al.*, 2011). A adrenalina nebulizada faz também parte da terapêutica clássica para casos de crupe, reduzindo a necessidade de intubação – é administrada na forma racémica de forma a evitar alguns efeitos adversos cardíacos (Fogel *et al.*, 1982). A suplantação de oxigénio deve ser feita em situações de hipoxia. A mistura do oxigénio com hélio, resulta num gás denominado *heliox*, reduz a resistência à passagem de ar e melhora de forma considerável o conforto do doente (Vorwerk e Coats, 2010).

A amamentação, ao transferir imunoglobulinas do grupo G para a criança, circunscreve o risco do aparecimento de crupe nos primeiros meses de vida (Glezen *et al.*, 1984)

3. Métodos de Diagnóstico

Os métodos de diagnóstico são ferramentas que permitem apoiar o diagnóstico clínico. São muito úteis, especialmente para pacientes internados – capazes de identificar o(s) agente(s) em causa e consequentemente otimizar a terapêutica para o seu combate, tomar medidas mais assertivas para minimizar a sua propagação, reduzir o tempo de internamento do doente, retirar da terapêutica antibióticos desnecessários reduzindo o risco de aparecimento de resistências, identificar novos agentes emergentes e definir períodos epidemiológicos dos vírus em causa. A realização dos exames de diagnóstico não deve suprimir o início precoce da terapêutica (Harris *et al.*, 2007; Mackie *et al.*, 2001; Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003; P. Woo *et al.*, 1997).

A sua sensibilidade e especificidade variam consoante o método, dependendo das características do vírus e dos alvos pesquisados (por exemplo, antígenos), do tipo e qualidade da amostra, da fase de coleção e também da idade do paciente (Kuypers *et al.*, 2006).

Nas últimas duas décadas os métodos de diagnósticos melhoraram muito no que toca à velocidade, sensibilidade e especificidade, particularmente devido aos novos métodos moleculares - amplificação dos ácidos nucleicos - que vieram alterar por completo a perceção da preponderância viral na etiologia das infeções respiratórias da comunidade. É de salientar que pela sua alta sensibilidade, o isolamento de uma espécie não implica a sua responsabilidade direta na patologia, uma vez que o agente pode ter um comportamento de colonização e não de infeção (Jennings *et al.*, 2008; Tadeu e Figueiredo, 2009).

Num estudo de Jennings e colaboradores, foram feitos 88 diagnósticos virais num universo de 304 pacientes com PAC. Os resultados de deteção variaram com o método de diagnóstico utilizado, assim: a imunofluorescência detetou 11 vírus, a cultura viral 32, a serologia 44 e o PCR 52. O PCR foi a única técnica capaz de detetar a presença de rinovírus e coronavírus (Jennings *et al.*, 2008).

Assim sendo, estão os seguintes exames validados para a deteção etiológica da infeção viral: sorologia, cultura viral, avaliação citológica, deteção rápida de antígenos e técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos. A imagiologia continua a ser um meio de excelência no que toca à realização do diagnóstico clínico de pneumonia pela especificidade dos padrões e como indicativo da evolução da doença. Para a obtenção

de um diagnóstico mais apurado pode ser necessário recorrer a métodos de diagnóstico extra, que permitam confirmar ou refutar as amostras negativas – a sua escolha fica dependente do agente a pesquisar e das ocorrências clínicas (Galeno *et al.*, 2013).

A Tabela II salienta as diferenças na deteção de microrganismos recorrendo a diferentes métodos, sendo que o PCR só foi utilizado para resultados negativos das outras duas técnicas.

Tabela II – Contribuição dos diferentes exames de diagnósticos no isolamento de vírus em PAC, adaptado de Johansson *et al.*, 2010

Patogénio	Número de positivos (%)	Cultura viral	Sorologia	PCR
Influenza	14 (8)	3	7	4
Rinovírus	12 (7)	-	-	12
VRS	7 (4)	1	5	1
Parainfluenza	7 (4)	1	5	1
Coronavírus	4 (2)	-	-	4
Metapneumovirus	4 (2)	1	-	3
Adenovírus	3 (2)	-	3	-
Herpes Simplex	2 (1)	2	-	-
Enterovírus	1 (0,5)	-	-	1
Total	54 (29)	8	20	26

As assinaturas imunológicas representam uma área de investigação com muito potencial futuro (Ramilo *et al.*, 2007). Um exemplo disso mesmo é o padrão de expressão de certos genes específicos e os seus consequentes produtos que é ativado como resposta à infeção pelo VSR no próprio local – bronquíolos – e também ao nível sistémico - sangue periférico -, que diferem entre si e permite então distinguir infeções agudas das respostas secundárias imunológicas e das respostas desencadeadas por vacinas. A indução da produção de interferão, um processo imunitário inato, está relacionada com estadios agudos e infeção primária, ao passo que a indução da ribonuclease associada aos eosinófilos é indicativo de uma imunização ativa. É possível que, de futuro, se consiga através dos diferentes padrões dos biomarcadores deduzir qual o agente infeccioso e qual o estado imunitário específico do hospedeiro para este agente (Pennings *et al.*, 2011).

3.1. Amostragem

O lavado nasal, esfregaço nasofaríngeo, lavado broncoalveolar e expetoração são as formas de recolha de amostras mais indicadas e representativas das secreções respiratórias (Katz *et al*, 2011).

Nas crianças, o lavado nasofaríngeo é preferível pela comodidade do método e por este ser pouco invasivo. Nos idosos mais frágeis ou com menores capacidades motoras esta técnica pode-se tornar inviável pela necessidade de uma participação ativa do sujeito – nestes casos o esfregaço nasal é adequado, apesar da sua menor sensibilidade (Falsey e Walsh, 2006).

A recolha da expetoração é um processo muito suscetível a resultados falsos-positivos, uma vez que poderá haver contaminação na passagem pela orofaringe. Nem sempre é possível recolher amostras de expetoração dos doentes, sendo que para estes casos é necessário adotar procedimentos mais invasivos como a broncofibroscopia (Nolte, 2008).

A amostra deve ser a apropriada e ter a maior quantidade e possível. No caso de ser transportada deve ser mantida a 4°C para curtos períodos de tempo, -70°C para conservação da amostra durante longos períodos de tempo e -20°C para deteção de anticorpos. O meio, enriquecido com soro bovino fetal, deve ser tamponado e adicionado com substância bactericida, a gentamicina, e fungicida, a anfotericina (Katz *et al.*, 2011).

3.2. Serologia

Método de diagnóstico indireto, pois em lugar de pesquisar o vírus em si, vai ao encontro dos anticorpos específicos produzidos pelo organismo, sobretudo as imunoglobulinas G presentes. Esta técnica permite a identificação de quase todos os vírus, e a revelação dos seus anticorpos pode ser realizada de diferentes formas - neutralização, fixação do complemento, inibição de hemaglutinação e imunoensaios dos quais o ELISA, a imunofluorescência ou *Western-blot* (Dragun *et al.*, 2013).

O método assenta na pesquisa de um aumento do título de anticorpos através da amostragem em duas fases distintas da infeção, uma na fase aguda e outra na fase de convalescença – 10 a 14 dias após a recolha da primeira amostra. O resultado do exame

sugere uma infecção aguda quando existe um aumento de quatro vezes no título dos anticorpos entre as duas fases ou pela presença de IgM – indicador transitório revelador de fase aguda e que se mantém por 5 a 6 semanas. Quando o título de anticorpos ou IgG – que conferem proteção permanente - apenas se eleva cerca de uma vez ou não há detecção das IgM estamos perante um cenário de reinfeção (Dragun *et al.*, 2013).

Pelo tempo que medeia a recolha das duas amostras até à fase de convalescença, tem pouca utilidade durante fase aguda de doença, período clinicamente mais importante, nomeadamente para o começo da terapêutica (Jennings *et al.*, 2008).

É um exame indicado para a pesquisa de adenovírus, VRS e influenza sazonal. É um exame impraticável para vírus que apresentem múltiplos serotipos, como é exemplo o rinovírus (Jennings *et al.*, 2008).

3.3. Cultura Viral

Antes do aparecimento dos métodos de biologia molecular, a cultura viral era o método *standart* para diagnóstico, uma vez que apesar de ser um processo moroso e com baixa sensibilidade – mesmo assim maior que os imunoensaios com fluorescência - permite também avaliar a suscetibilidade aos agentes antimicrobianos (Nolte, 2008; Ostlund *et al.*, 2004).

Por norma os meios de cultura são incubados a 35- 37°C e são necessários 7 a 14 dias para se observarem os efeitos citopáticos dos vírus - corpos de inclusão, vacúolos, destruição nuclear, sincícios, alterações morfológicas e/ ou granulação celular - nas células eucariotas presentes na cultura. O crescimento inicial é feito recorrendo a células primárias ou secundárias – faz-se em primeiro lugar pela sua semelhança com o organismo, mas tem a contrariedade das células morrerem muito rapidamente. De seguida a cultura é transferida para linhas celulares diploides – que são linhas mais fáceis de trabalhar - e posteriormente células contínuas ou linhas celulares, que se dividem indefinidamente - HeLa, Vero, RK13, etc (Ginocchio, 2007; Leland e Ginocchio, 2007).

Podem também ser adicionados anticorpos monoclonais marcados com fluorocromos ou sondas de ácidos nucleicos para revelar vírus específicos. Para confirmação do vírus influenza ou parainfluenza em cultura viral deve-se realizar um método de hemadsorção (Ginocchio, 2007; Leland e Ginocchio, 2007).

Exige meios de cultura específicos – estando limitado à detecção de um microrganismo por teste -, implica um longo tempo de espera para obtenção dos resultados, o que pode comprometer a terapêutica. Tem um alto custo e pouca viabilidade para certas espécies de vírus como o VRS e os mais recentemente descobertos metapneumovírus e coronavírus (Jennings *et al.*, 2008).

Os formatos rápidos das sementeiras virais envolvem uma centrifugação precedente à incubação, o que diz respeito à incorporação da amostra no meio de cultura, ficando em suspensão no meio ao invés da tradicional monocamada – esta técnica acelera o processo dos seis dias de espera para a cultura viral clássica para um período médio de 48 horas (Fong, *et al.*, 2000; Gillim-Ross *et al.*, 2004; Leland e Ginocchio, 2007).

3.4. Imunoensaios/ Detecção Rápida de Antígenos

Testes rápidos que pesquisam a presença de antígenos, recorrendo ou não a métodos de fluorescência, usando como amostras as zaragatoas e lavados nasais. Estes testes ao contrário da cultura viral não exigem células viáveis mas apenas os antígenos virais e, quando em comparação com estes, têm uma boa especificidade mas uma menor sensibilidade, o que os torna um excelente meio complementar de diagnóstico (Deiman *et al.*, 2007).

Os imunoensaios que não recorrem à fluorescência são os imunoensaios enzimáticos e os imunoensaios óticos, sendo todos eles revelados por uma diferença colorimétrica como resposta à adição do substrato da enzima em causa – geralmente a peroxidase. Podem ser realizados fora do laboratório, estando dispersos pelos diversos serviços do hospital para emergências médicas. São simples de realizar e demoram 15 a 30 minutos para revelar resultados. Estão limitados aos vírus influenza A e B e ao vírus respiratório sincicial (Ginocchio, 2007; WHO, 2005).

Os testes de detecção rápida de antígenos por imunofluorescência (IF) empregam reagentes compostos por anticorpos monoclonais específicos associados a moléculas fluorocromos – a intensidade da fluorescência, o padrão e mesmo a localização desta indicam qual o(s) microrganismo(s) detetado(s). Não é tão célere como os métodos não fluorescentes, demorando entre meia hora a hora e meia (Ginocchio, 2007; Prendergast e Papenburg, 2013).

O método requer múltiplos reagentes que diferem consoante o agente em causa, o que faz variar a sensibilidade e especificidade. Não está assim recomendado para microrganismos que apresentem baixos rendimentos na sua deteção, como é o caso do vírus influenza H5N1 (Jennings *et al.*, 2008). Os *kits* estão disponíveis para os vírus influenza A e B, VRS, parainfluenza 1, 2 e 3 e para o adenovírus, se bem que as sensibilidades variam muito. Já existem no mercado testes que detetam certas combinações virais definidas, tais quais influenza A/ influenza B, parainfluenza/ adenovírus, VRS/ influenza A, entre outros. Muito utilizado como método de rastreio nos picos de maior prevalência viral (Ginocchio, 2007; Kuypers *et al.*, 2006).

Muitas das vezes, os resultados falsos negativos da IF devem-se ao baixo número de cópias virais existentes na amostra, ou seja, o método necessita de uma amostragem com um número de cópias adequado – abaixo de dez milhões de cópias por mililitro a deteção através de IF decai para 19% face às técnicas moleculares. Interessante é o facto do adenovírus e o parainfluenza, vírus fracamente detetados, apresentarem muitas vezes presentes com cargas virais baixas (Kuypers *et al.*, 2006).

A sua celeridade, o facto de poder ser realizado pela equipa clínica fora do laboratório e de servir de apoio direto nos variados serviços hospitalares tornou-se um método bastante aprazível. Em 2011 registou-se nos EUA que os testes de deteção rápida de antigénios foram utilizados na deteção de dois terços das infeções por VRS – para este caso, a grande maioria dos testes tem como alvo a sua proteína de fusão à superfície (Prendergast e Papenburg, 2013).

Por enquanto o desenvolvimento desta técnica está restrito à descoberta de novos antigénios passíveis de deteção e à impossibilidade de testar vários microrganismos num só teste. O rinovírus humano, o coronavírus e o bocavírus não são detetáveis recorrendo a esta técnica (Murdoch *et al.*, 2009).

3.5. Amplificação Genética

Implementados a partir de 2000 como métodos de diagnóstico etiológico, enquadram-se nesta técnica, por exemplo, o PCR e o RT-PCR, métodos moleculares mais utilizados. Consistem na amplificação do ADN ou ARN viral e revelação através de uma eletroforese colorimétrica em gel de agarose. Tiveram um contributo precioso no aumento da deteção de patógenos respiratórios – em cerca de 50% (Johansson *et al.*,

2010; Oosterheert *et al.*, 2005) - e na identificação dos novos vírus respiratórios emergentes como o metapneumovírus, o SARS coronavírus, o H5N1, os coronavírus NL63 e HKU1 e o bocavírus humano - muito devido à sua elevada sensibilidade e especificidade, sendo mesmo capazes de detetar um vírus através de apenas dez cópias do genoma viral. Por exemplo, o rinovírus e o coronavírus humanos ou não são ou são muito escassamente detetados recorrendo às técnicas clássicas, razão pela qual apesar de circularem na espécie humana, há décadas, só agora se tornaram relevantes em patologia respiratória. A deteção de vírus respiratórios recorrendo a métodos convencionais ronda os 14% dos casos, aumentando para 56,2% com o uso destas técnicas moleculares (Nascimento *et al.*, 2010; Templeton *et al.*, 2005).

Deve ser considerado como o exame de eleição apesar do seu alto custo. Estes testes necessitam de pelo menos seis horas para obter resultados, estando disponíveis ainda num período clinicamente relevante para o começo ou alteração da terapêutica. Nesta técnica é possível identificar múltiplos microrganismos numa só amostra (Kuypers *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2010; Templeton *et al.*, 2005).

A elevada sensibilidade que estes testes apresentam, pode conduzir a resultados e reflexões precipitadas pois o microrganismo detetado pode estar numa situação clinicamente irrelevante (Caliendo, 2011; Creer *et al.*, 2006).

O seu alto custo faz com que não esteja amplamente disponível, em especial fora das unidades de cuidados mais centrais. Requer informação relativa às sequências genómicas para sintetizar os *primers* específicos dos alvos virais e tem um alto risco de contaminação cruzada (Nolte, 2008; Olofsson, *et al.*, 2011). Técnica menos afetada pela qualidade e transporte das amostras. Duplicou a quantidade de vírus detetados em crianças com menos de cinco anos (Kuypers *et al.*, 2006).

O *real-time* PCR aumentou a prevalência de sete vírus respiratórios entre 26.9 e 33.8% em relação à técnica de imunofluorescência, permitem fazer a quantificação da carga viral e de analisar mais profundamente a epidemiologia dos vírus respiratórios e as suas épocas de surto (Figura IV) (Kuypers *et al.*, 2006; Syrmis *et al.*, 2004).

Figura IV – Estudo epidemiológico esquemático referente às sazonalidades dos diferentes vírus nas regiões temperadas do hemisfério norte realizado em PCR, adaptado de Olofsson *et al.*, 2011

Vírus	Meses do ano											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Influenza A												
VRS												
MPVH												
CoV												
RVH												
AdV												

Períodos com pouca ou nenhuma prevalência
 Períodos de alguma prevalência
 Períodos de maior prevalência (picos)

- *Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction*

O MRT-PCR é uma nova técnica de amplificação molecular que, no espaço de um dia, permite em simultâneo detetar a presença, neste caso, de um ou mais vírus respiratórios (Bellau-Pujol *et al.*, 2005; Coiras *et al.*, 2004). O leque de vírus respiratórios pesquisado varia com o fabricante, mas a base é composta pelo Influenza A e B, VRS A e B, HPIV 1, 2 e 3 e o metapneumovirus, utilizando para esse fim múltiplos *primers* específicos de cada vírus concomitantemente. Eventualmente, permitirá um estudo mais concreto da importância das infeções mistas (Carman e Mahony, 2007; Mahony, 2008).

O ensaio *Multiplex* tem um melhor custo efetivo que o PCR clássico – custo de 35 euros por espécie (Brittain-Long *et al.*, 2011)- mas implica uma otimização e um *design* de tal forma que os diferentes *primers* não interfiram uns com os outros e consequentemente com a sensibilidade do teste (Mahony *et al.*, 2007).

Este teste é da maior importância para doentes transplantados com infeção respiratória, uma vez que a deteção de todos os agentes patológicos envolvidos é crucial para o tratamento destes pacientes (Pavia, 2011).

O *Respiratory Viral Panel®* ou RVP é um teste *multiplex* PCR comercializado pela empresa *Luminex* e foi recentemente aprovado pela FDA como método de diagnóstico clínico. Permite a deteção de até vinte vírus respiratórios diferentes num espaço médio de cinco horas. Este método acaba por requerer menos mão-de-obra e apresenta uma redução de custos face a realizar todos estes testes individuais em

paralelo. Usa, para tal, 14 *primers* iniciais específicos de cada vírus e posteriormente 21 *primers* específicos para os seus tipos e subtipos. Os seus pontos fortes recaem na sua especificidade e a sua capacidade de detetar múltiplos vírus numa mesma reação. Brunstein e colaboradores, usando o RVP, detetaram doze vírus respiratórios circulantes entre janeiro e fevereiro do 2006 e apenas cinco recorrendo à imunofluorescência, um ano antes . Poder-se-á, de futuro, tornar numa ferramenta útil na vigilância para o aparecimento de surtos epidémicos e pandémicos e de novos microrganismos emergentes (Brunstein *et al.*, 2008; J. Mahony *et al.*, 2007).

Existem outras modalidades de testes *Multiplex* RT-PCR que envolvem a pesquisa de mais vírus respiratórios, execução mais rápida, capacidade de serem realizados nos serviços hospitalares, entre outros benefícios. Contudo muitos deles ainda não estão homologados em prática clínica e as suas características estão ainda sob investigação das entidades mundiais responsáveis por saúde e patologia, como a *Food and Drug Administration* (FDA).

4. Vírus Respiratórios

Os vírus respiratórios são por norma sazonais e têm tempos de vida curtos, podendo numa superfície sobreviver apenas alguns minutos ou horas - são as suas concentrações em amostras biológicas de indivíduos doentes que os tornam tão passíveis de ser transmitidos. Estes agentes são normalmente transmitidos entre humanos, podendo haver exceções de zoonoses que conseguem parasitar o homem. A transmissão em si pode ser feita por contacto direto via objetos contaminados ou, com especial importância, através de partículas respiratórias, como os aerossóis (Carman e Mahony, 2007).

A imunização para alguns dos microrganismos respiratórios mais preponderantes como o *Streptococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenza* do tipo B poderá ter aumentado a incidência dos vírus em patologias respiratórias, nomeadamente na pneumonia (Olli Ruuskanen *et al.*, 2011).

Existem três famílias de vírus com uma altíssima predominância em patologia respiratória, são elas por ordem respetiva de preponderância: *Paramyxoviridae* (vírus respiratório sincicial e parainfluenza humano), *Orthomyxoviridae* (influenza) e *Picornaviridae* (rinovírus humano) (Lysholm *et al.*, 2012).

Muitos vírus, apesar de não serem considerados respiratórios são transmitidos por via do sistema respiratório e suas secreções - é o caso do herpes vírus, os enterovírus e o parvovírus B19 (Young e Brown, 2004).

Na pneumonia, ainda não está bem descrito se é o vírus em si capaz de invadir e de se multiplicar no trato respiratório inferior ou, por outro lado, se o vírus atua em conjunto com outros microrganismos respiratórios numa ação sinérgica (Panuska *et al.*, 1990; Papadopoulos *et al.*, 2000).

Tabela II – Características epidemiológicas, patogénicas e de disseminação de alguns dos principais vírus respiratórios, adaptado de Falsey e Walsh, 2006.

Vírus	Época	Periodicidade	Tempo de incubação	Principal meio de disseminação
Influenza	Inverno	Anual	1-2 dias	Aerossóis

VRS	Novembro a Março	Anual	2-8 dias	Gotículas e objetos
Metapneumovirus	Janeiro e Fevereiro	Cada 2 anos	5-6 dias	Gotículas e objetos
Parainfluenza	Outono à Primavera	Cada 2/3 anos	2-8 dias	Gotículas e objetos
Coronavírus	Inverno	Cada 2/3 anos	1-3 dias	Gotículas e objetos
Rinovírus	Todo o ano; Outono	Anual	8 horas a 2 dias	Objetos contaminados

Um estudo de *Ichinohe* e colaboradores apontou para que a flora comensal do trato respiratório seja importante na manutenção da homeostasia imunitária deste sistema, regulando e mediando a resposta imunitária *in loco* quer na ausência quer na presença de microrganismos. O estudo permitiu distinguir ainda que nem toda a flora comensal é responsável de igual forma por este processo, sendo mais preponderante no processo inflamatório e de ativação das citocinas a flora sensível à neomicina. O tratamento com este antibiótico reduziu a resposta imunitária inata, muito provavelmente por uma reposição na flora nasal da espécie *Lactobacillus spp.* para a espécie *Corynebacterium spp.* (Ichinohe *et al.*, 2011).

4.1. Influenza

Vírus de ARN pertencente à família *Orthomyxoviridae* e com três serotipos conhecidos, A, B e C, com importância em patologia humana. Pensa-se que seja responsável por infetar 25% da população todos os anos mas que apenas metade destes casos sejam sintomáticos, sendo agente etiológico de 4 a 8% das pneumonias em indivíduos saudáveis e sobretudo de surtos epidémicos (Angeles Marcos *et al.*, 2006; Johnstone *et al.*, 2008).

O vírus influenza é composto por inúmeros subtipos definidos consoante as variações das proteínas que apresenta à sua superfície ou antigénios: hemaglutinina (H) - molécula responsável pela ligação à membrana celular e entrada do vírus na célula através da ligação às moléculas de ácido siálico da mesma - e de neuraminidase (N) –

que cliva a ligação com as moléculas de ácido siálico e assim permite a libertação dos novos vírus (Angeles Marcos *et al.*, 2006; Falsey e Walsh, 2006; Ungchusak *et al.*, 2005).

Tem um tempo de incubação de dois dias e os sintomas persistem por cinco. A infeção começa com a morte das células do trato respiratório superior e quando atingidas as porções inferiores deste sistema é característica a existência de hemorragia com acumulação de fatores inflamatórios. Verifica-se também uma redução na imunidade do hospedeiro através do escasso número de linfócitos T, neutrófilos e macrófagos o que pode predispor uma infeção bacteriana secundária (Kallen *et al.*, 2009).

Está por norma limitado às porções superiores do trato respiratório, podendo a sua infeção variar desde formas assintomáticas até doenças graves com desfechos fatais, nomeadamente em pacientes com doenças crónicas subjacentes. A possibilidade de disseminação sistémica é muito diminuta, mas depende da estirpe em causa (Chiu *et al.*, 2001).

O influenza A é responsável por surtos epidémicos anuais alternados nos hemisférios norte e sul do planeta – no primeiro entre outubro e março - e é por norma o subgrupo mais virulento. No total, para este serotipo, são conhecidos dezasseis tipos de antigénios diferentes de hemaglutinina e nove de neuraminidase, mas as variações mais frequentemente associadas a patologia humana são H1, 2 e 3 e N1 e 2. As variações antigénicas são processos caraterísticos destes vírus, que lhes permite escapar ao sistema imunitário do hospedeiro e assim exponenciar a sua virulência e dividem-se em dois tipos: o *drift* ou *minor* e *shift* ou *major*. No primeiro há alterações menores nos epítomos dos antigénios de hemaglutinina, sendo responsável por epidemias e pela necessidade anual de ajustamento da formulação da vacina. No processo de *shift*, dois vírus influenza trocam, num hospedeiro, as respetivas moléculas de hemaglutinina ou neuraminidase e é responsável por episódios pandémicos como de 1918 (H1N1), 57 (H2N2) e 68 (H3N2) (Falsey e Walsh, 2006).

Desde 1968 que o H3N2 tem sido a estirpe epidémica sazonal do vírus influenza A dominante, com as respetivas variações antigénicas anuais (Smith *et al.*, 2004).

O vírus influenza B é responsável sobretudo por infeções em populações confinadas a espaços fechados como em creches e lares. Pensa-se que este e o serotipo estejam envolvidos em metade das PACs virais (Angeles Marcos *et al.*, 2006).

Da infecção pelo vírus influenza podem advir as seguintes complicações: pneumonia primária por influenza, pneumonia secundária bacteriana, pneumonia secundária por agentes atípicos e exacerbação de doenças crônicas pulmonares (Rothberg *et al.*, 2008).

A pneumonia por influenza caracteriza-se por tosse persistente, dor na orofaringe, mialgias, cefaleias e dispneia. Infiltrados ou condensados pulmonares nem sempre estão presentes. A coinfeção bacteriana produz febre, tosse produtiva purulenta após uma melhora inicial e pioram acentuadamente a mortalidade nestes pacientes. As bactérias envolvidas nestas coinfeções são, por norma, o *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e o *Haemophilus influenzae* (Kallen *et al.*, 2009). A pneumonia pelo vírus influenza é clinicamente muito semelhante às pneumonias causadas por outros agentes atípicos mas a sua terapêutica é radicalmente diferente (Carman e Mahony, 2007).

O vírus pode ser isolado nas expetorações, lavado nasal e zaragatoas nasais ou faríngeas. Os testes rápidos têm alta especificidade para os serotipos A e B (de 85 a 100%), contudo apresentam uma sensibilidade baixa com valores a rondarem os 40 a 80% (Capelozzi *et al.*, 2010).

A terapêutica envolve sobretudo medidas de suporte, com suplementação de oxigénio se necessário e administração de analgésicos e antipiréticos. A terapêutica antiviral é feita com recurso aos inibidores da neuraminidase, oseltamivir e zanamivir, e aos inibidores da proteína M2, amantadina e rimantadina. A terapêutica é tanto mais efetiva quanto mais precocemente for iniciada – nas primeiras 12 horas é significativamente mais eficaz que nas seguintes 36 horas. O primeiro grupo referido deve ser administrado até 48 horas após o início dos sintomas, são altamente suscetíveis de induzir resistências e estão também indicados como agentes profiláticos, não surtindo efeitos no subgrupo B. Os efeitos adversos ao nível do SNC limitam o uso da amantadina (Capelozzi *et al.*, 2010; Tadeu e Figueiredo, 2009).

Os inibidores da proteína M2 também devem ser administrados nos primeiros dois dias de sintomas, têm menos efeitos adversos, baixo potencial de indução de resistências (cerca de 99% das estirpes circulantes são sensíveis) e são ativos contra os serogrupos A e B. O zanamivir está contraindicado em pacientes com DPOC pela possibilidade de induzir broncospasmo (Anthony E. Fiore *et al.*, 2011; F. G. Hayden *et al.*, 1999).

Ocasionalmente, vírus zoonóticos conseguem infectar o Homem, conduzido a epidemias e mesmo a pandemias, como as ocorridas a 1890, 1900, 1918, 1957, 1968 e 2009.

- *Influenza A H5N1 aviária*

Vírus influenza altamente patogénico resultante de uma série de rearranjos entre estirpes aviárias pertencentes a um grupo de vírus influenza H5N1 identificados pela primeira vez em Guan Dong, China, no ano de 1996. Vírus endémico nas espécies de aves asiáticas e de algumas regiões africanas e a sua transmissão para o Homem ocorre quase exclusivamente a partir de um animal, não estando o vírus ainda bem adaptado à transmissão entre humanos (Duan *et al.*, 2008).

A sua fraca replicação no trato respiratório superior conjuntamente com o seu tropismo poderá ser a justificação para a sua fraca transmissão dentro da espécie humana. O seu tropismo está relacionado com um recetor de superfície existente no trato respiratório de aves e apenas na porção inferior do trato respiratório do Homem (Peiris *et al.*, 2009; van Riel *et al.*, 2006).

A sua infeção é menos provável em indivíduos com menos de 40 anos e que ao contrário dos vírus influenza sazonais, não se caracteriza por maiores prevalências nos grupos de risco tradicionais – imunodeprimidos e doentes crónicos, entre outros (Smallman-Raynor & Cliff, 2007).

- *Influenza A H1N1 suína*

Primeira pandemia de influenza do século XXI com origem no estado da Califórnia (EUA) e no México. É uma estirpe originária do influenza circulante em suíno, altamente adaptada à transmissão homem-homem (Dawood *et al.*, 2009; Scalera e Mossad, 2009). O seu tipo de antígenos é distinto das estirpes sazonais, podendo a molécula de hemaglutinina ser rastreada até ao H1N1 pandémico de 1918 (“Gripe Espanhola”) que passou e permaneceu endémica em porcos (Vincent *et al.*, 2006).

Em cinco meses foram isolados laboratorialmente perto de 300 000 casos e resultou em 3 486 mortes (mortalidade de 1,16%). Foi demonstrada uma maior prevalência em crianças e jovens adultos saudáveis, apresentando os casos uma idade média de 26 anos (Dawood *et al.*, 2009; Secretaria de Vigilância em Saúde (Brasil), 2009). A distribuição etária do vírus sugere que os indivíduos mais velhos estejam parcialmente imunizados (Rothberg e Haessler, 2010). O estudo de Dawood, revelou

uma mortalidade para 7,6% dos doentes internados e todos eles apresentaram doença pulmonar grave com hipoxemia e choque severos, culminando em falência multiorgânica (Dawood *et al.*, 2009).

O modo de transmissão do H1N1 pandêmico é semelhante ao das estirpes sazonais – gotículas respiratórias, transmissão via objetos contaminados e, para esta estirpe, possivelmente de modo fecal-oral (a sua disseminação sistêmica faz com que o seu ADN seja detetado nas fezes do hospedeiro) (Jain *et al.*, 2009).

Foi demonstrado que as mulheres grávidas nos segundos e terceiros trimestres de gravidez estão predispostas a um alto risco de desenvolver doença severa caracterizada por síndromes de insuficiência respiratória aguda, insuficiências renais e hepatites fulminantes – esta tendência pode advir da gravidez compelir um certo nível de imunossupressão. A mortalidade foi mais elevada para este grupo de risco face aos restantes – no Brasil, das 856 mulheres infetadas, 91 morreram, o que corresponde a uma mortalidade a rondar os 10,6% (Secretaria de Vigilância em Saúde (Brasil), 2009). As crianças com asma apresentam também um risco significativamente maior de desenvolver doença grave (O’Riordan *et al.*, 2010).

Um estudo revelou que 70% dos pacientes infetados simultaneamente pelo influenza e *Streptococcus pneumoniae* tiveram um desfecho fatal – mortalidade muito mais acentuada que os 2 a 6% para doentes hospitalizados infetados apenas pelo influenza A (Jean *et al.*, 2010).

Já existem vacinas disponíveis, que em duas semanas, numa dose única, induzem uma imunização ativa (Zhu *et al.*, 2009).

- *Influenza A H7N9 aviária*

Novo vírus influenza atípico, é uma estirpe aviária e foi descrita pela primeira vez na China em abril de 2013, não havendo casos descritos fora deste país, apesar de ser expetável que ocorra uma possível mutação e que o possa tornar pandêmico (Trampuz *et al.*, 2004). Apenas nos primeiros meses afetou mais de 130 pessoas e foi responsável por 44 mortes, o que lhe confere uma taxa de mortalidade a rondar os 20%. A sua transmissão é baixa e muito inferior aos restantes vírus sazonais, o que, em conjunto com as medidas tomadas pelas autoridades locais pode ter sido responsável pela contenção desta nova estirpe humana. Para além disso, não há provas que consiga ter uma transmissão entre humanos (Wiwanitkit, 2013).

Desta forma, a sua transmissão ocorre com a exposição a uma ave infetada ou em locais onde possa existir essa mesma contaminação, como aviários e mercados, entre outros; espécies de aves selvagens podem também ser portadoras deste vírus (Li *et al.*, 2013).

Esta estirpe é muito diferente dos vírus influenza tradicionais humanos, o que justifica a raridade do aparecimento de um vírus proveniente de uma outra espécie, mas pode também piorar o prognóstico, uma vez que o sistema imunitário humano poderá não estar preparado para um agente tão distinto dos restantes. O H7N9 tem mutações no seu genoma que aumentam a sua virulência sobre mamíferos. A sintomatologia inicial é semelhante a uma gripe comum – estado febril com tosse e mialgias - que evolui de forma repentina e progressiva para pneumonia, síndromes agudos respiratórios e falência multiorgânica com afeção dos sistemas cardíaco, nervoso central e renal e do fígado (Centre for Disease Control and Prevention (CDC), 2013; Wiwanitkit, 2013).

Ainda não existe vacina disponível e, apesar de não existirem provas da sua eficácia, o oseltamivir deve ser utilizado não só para tentar controlar a infeção mas também para evitar a sua disseminação (Li *et al.*, 2013).

4.2. Vírus Respiratório Sincicial

Vírus ARN da família *Paramyviridae*, sendo muito importante na patologia respiratória nas crianças (Queiróz *et al.*, 2002) e também em idosos. Lactentes, doentes crónicos, doentes cardíacos, idosos institucionalizados e indivíduos imunodeprimidos constituem um grupo de risco para este vírus, sendo para estes últimos o prognóstico significativamente pior. Anualmente 200 000 crianças com menos de cinco anos morrem em todo o Mundo, vítimas de infeção pelo VRS (Nair *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2008).

Existem dois grupos A e B e um maior número de subtipos que diferem significativamente nos seus antígenos. A infeção dá-se inicialmente nas vias aéreas superiores acompanhada de sintomas como a faringite associada à tosse persistente, dispneia ou sibilos. Pode evoluir para situações de bronquite, bronquiolite ou pneumonia grave, com a mortalidade a rondar os 41% em transplantados de medula óssea (Dowell *et al.*, 1996; Vieira *et al.*, 2010).

É um vírus ubiquitário e, prova disso mesmo, é a percentagem de crianças com menos de dois anos que demonstra serologicamente pelo menos uma infeção pelo VRS – 98%. A exposição ao vírus não lhe confere proteção, mas há evidência científica que a reinfeção ocorre de uma forma muito menos severa (Henderson *et al.*, 1979).

É característico um pico epidémico durante o inverno e a primavera, de dezembro a março, num período bianual. Identificado como a maior causa de pneumonia viral em crianças e é muito prevalente nestes até um ano de idade e nos seus familiares, sendo as infeções mais severas nas crianças com idades compreendidas entre 3 semanas e 3 meses e reinfeção por norma menos grave mas mais severa com o avançar da idade (Rudan *et al.*, 2008). Nos idosos residentes de lares é responsável por infetar cerca de 10% destes, sendo que 10% irão desenvolver um estado pneumónico – o VRS, é assim, considerado a segunda causa mais comum de pneumonia viral (Tadeu e Figueiredo, 2009; Walsh *et al.*, 2005). As reinfeções são comuns e é também característico um número considerável de infeções assintomáticas (Carman e Mahony, 2007; Falsey e Walsh, 2000; Village, 2006; Walsh *et al.*, 2005).

Os testes rápidos de deteção de antígeno têm uma sensibilidade de 50 a 90% e uma especificidade alta – 90 a 95% -, para este vírus (Vieira *et al.*, 2010).

Sem qualquer vacina disponível, o *palivizumab* é o agente profilático de preleção. Este anticorpo monoclonal de administração intravenosa tem uma ação neutralizadora específica para a proteína de fusão do vírus respiratório sincicial e do metapneumovírus. Utiliza-se em crianças com alto risco de desenvolverem uma infeção grave e os transplantados (Papenburg *et al.*, 2012).

4.3. Adenovírus

Vírus de ADN de cadeia dupla, ubiquitário e endémico nos países temperados ao longo de todo o ano, podendo ocasionalmente ser responsável por surtos epidémicos, sobretudo nos meses de inverno e primavera, mas sem padrão definido (Choi *et al.*, 2006). Tem grande tropismo para os tecidos e gânglios linfáticos, razão pela qual pode afetar um vasto número de órgãos e assim causar conjuntivites, faringites, gastroenterites, pneumonias, miocardites, meningoencefalites, hepatites, cistites hemorrágicas e em último caso falência multiorgânica com o disseminar da doença. Responsável tanto por infeções esporádicas como por surtos da comunidade em

indivíduos institucionalizados, como crianças em creches, militares e idosos em lares (Hilleman, 1957; Louie *et al.*, 2008; Mandell *et al.*, 2009).

Agente causador de doença moderada no sistema respiratório, mas também de pneumonia – sobretudo a forma infantil, sendo responsável por 5 a 10% destas consoante a geografia e as características sanitárias do país -, de bronquite e de bronquiolite. É mais incidente em crianças do sexo masculino entre os três e os cinco anos de idade (Carballal *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2003; Moura *et al.*, 2007). As infeções são especialmente graves nas populações de risco – lactentes, crianças, idosos e imunodeprimidos/ transplantados (Knipe e Howley, 2001; Mandell *et al.*, 2009).

Existem no total 67 serotipos classificados em 7 grupos denominados de A a G. As espécies B, C, D e E circulam em todo o Mundo e estão bem caracterizadas. Há espécies e serotipos que se caracterizam por estarem mais associados com certas doenças, síndromes e comportamentos epidémicos. Os grupos B, C e E são os grupos mais associados com infeção respiratória e têm uma mortalidade reduzida (Jin *et al.*, 2013). Os restantes serotipos são pouco frequentes e ainda não está bem estabelecido o seu papel em patologia humana (Centre for Disease Control and Prevention (CDC), 2012; Louie *et al.*, 2008; G. L. Mandell *et al.*, 2009; Matsushima *et al.*, 2009).

O adenovírus 3, 7 e 21 são agentes responsáveis por surtos respiratórios graves em crianças. Em 2009 na China foi descrito um novo serotipo, o 55, resultante da recombinação dos AdV 11 e 14 e foi reportado pelo CDC como agente causador de surto em várias províncias chinesas (Hong *et al.*, 2001; Matsushima *et al.*, 2009).

O serotipo 14, do grupo B, está associado a doenças respiratórias graves com necessidade de internamento prolongado na UCI e de ventilação mecânica, afetando por exclusivo pacientes com doença pulmonar crónica subjacente (DPOC). A mortalidade deste agente varia de 38 a 100% consoante os estudos, deixando sequelas graves nos sobreviventes como bronquiolite obliterante ou dependência de ventilador. O vírus é passível de uma reativação nos anos posteriores à doença (Mandell *et al.*, 2009; Shields *et al.*, 1985).

O diagnóstico de adenovírus é feito através de culturas virais, meios de deteção rápida de antígenos ou PCR a partir de secreções respiratórias (Shields *et al.*, 1985).

Não há ainda vacinas nem estudos concretos sobre qual a terapêutica farmacológica mais indicada. Para os casos graves a combinação ciclofovir/ribavirina tem apresentado bons resultados. As moléculas utilizadas para esta infeção são a

ribavirina, o ciclofovir, o ganciclovir e a vidarabina (Bordigoni, *et al.*, 2001; Carballal, *et al.*, 2002).

Vírus mais detetado em infeções respiratórias mistas, podendo ser consequência de ser detetável após a infeção primária ou dos inúmeros portadores assintomáticos existentes (Kuypers *et al.*, 2006). A infeção viral dupla por adenovírus e rinovírus pode piorar o prognóstico da doença ao aumentar a sua severidade (Templeton *et al.*, 2005).

4.5. Parainfluenza humano

O VPIH faz parte da família *Paramyxoviridae* e é classificado dentro de cinco subtipos, 1, 2, 3 e 4a e 4b. É característica a sua distribuição sazonal, com o VPIH 3 a predominar na Primavera/Verão e os VPIH 1 e 2 no Outono. Agente responsável por casos de bronquite, bronquiolite e pneumonia em adultos e de constipações, crupe e bronquiolite em crianças. A mortalidade é significativa quando a infeção evolui para estados pneumónicos. Estatisticamente é a segunda causa mais comum de infeção viral em crianças (Forster *et al.*, 2004). Os subgrupos 1 e 3 são os mais prevalentes em adultos saudáveis e são uma problemática muito grave em imunodeprimidos – como os transplantados - dadas as significativas taxas de mortalidade para este grupo (Lewis *et al.*, 1996; Whimbey *et al.*, 1993).

Apesar da semelhança no espectro de doenças com o VRS - bronquiolite e pneumonia -, as infeções causadas pelo vírus parainfluenza nos primeiros seis meses de vida implicam uma muito menor necessidade de internamento e assistência médica (Carvalho *et al.*, 2007; Knott *et al.*, 1994; Reed *et al.*, 1997). O processo infeccioso começa com a invasão do trato respiratório superior, replicando-se o vírus nas células ciliares do epitélio nasofaríngeo, podendo ou não alastrar-se ao trato respiratório inferior (Hall, 2001). O seu tropismo específico mantém a virémia a um nível muito baixo ou mesmo ausente em indivíduos sãos, limitando a exposição antigénica e o ganho de imunidade – este fator parece estar relacionado com a ocorrência de reinfeções pois é muito difícil para o organismo manter os níveis protetivos de IgA e IgG no lúmen respiratório (Le Nouën *et al.*, 2009).

Os subgrupos 1 e 3 do vírus parainfluenza estão particularmente associados a infeções do trato respiratório inferior. O subgrupo 1, mais prevalente entre os dois e os seis anos de vida, caracteriza-se por desencadear crupe nos seus hospedeiros e está

reconhecida a sua associação frequente com outros agentes coinfectantes, o que sugere que a severidade das suas infeções possa estar muito mais relacionada com a predisposição que induz no hospedeiro do que com a sua virulência (Fiore *et al.*, 1998; Lewis *et al.*, 1996; Nichol e Cherry, 1967). Em contraste, o subgrupo 3 é mais incidente em crianças até aos seis meses de vida e é identificado quase em exclusivo sem outro agente coinfectante (Knott *et al.*, 1994; Marx *et al.*, 1999; Marx *et al.*, 1997; Reed *et al.*, 1997). Os VPIH 2 e 4 têm pouca expressão clínica (Carman e Mahony, 2007).

Ao fim de dois anos de vida, praticamente todas as crianças (80%) já estiveram expostas ao vírus parainfluenza – a imunidade gerada não é completa e as reinfeções são passíveis de acontecer ao longo da vida, manifestando-se maioritariamente através de sintomas respiratórios superiores. São então considerados fatores de risco para desenvolver infeção pelo vírus parainfluenza as idades mais pequenas e a não-exposição prévia ao vírus (Mäkelä *et al.*, 1998).

A terapêutica de suporte é indicada para infeções pelo parainfluenza e o uso de ribavirina, tanto na forma oral como na forma aerossolizada, está reservada para quadros graves ou para doentes de alto risco (Chakrabarti *et al.*, 2001).

4.5. Novos vírus/ Vírus Emergentes

Desde 1997 tem havido uma alteração drástica no aparecimento e descoberta de novos vírus respiratórios, tendo aumentado dramaticamente relativamente a décadas anteriores.

Em 1997, em Hong Kong, o vírus influenza A H5N1 foi pela primeira vez considerado agente responsável de patologia em humanos. Desde essa data foram descobertos, de entre outros, o metapneumovirus humano (van den Hoogen *et al.*, 2001), o primeiro coronavírus associado a SARS (SARS-CoV) em Hong-Kong que foi responsável por uma epidemia no Sudeste Asiático (WHO, 2004), o Bocavirus na Suécia pertencente ao grupo Parvovirus (Allander *et al.*, 2005), o HCoV NL 63 por van der Hoek em Amsterdão (van der Hoek *et al.*, 2004) e o HCoV HKU1 por Patrick Woo em Hong Kong (Woo *et al.*, 2005).

Outros vírus recentemente descobertos foram o Mimivírus e o Parvovirus 4 e a sua preponderância clínica ainda não está bem estabelecida (Jones *et al.*, 2005; La Scola *et al.*, 2005).

4.5.1. Coronavírus

Vírus ARN, responsável por uma epidemia grave de pneumonia na China em 2003 com quadros de mialgia, calafrios e dispneia que pode evoluir para insuficiência respiratória - SARS. Foram já reconhecidos quatro subtipos envolvidos em patologia humana – HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1 (Tsang *et al.*, 2003; Zhong *et al.*, 2003).

Estes vírus estão dependentes da enzima ARN polimerase para replicarem o seu material genético. E amantadina e rimantadina esta enzima não possui nenhum mecanismo de leitura ou correção de erros, o que gera um elevado número de mutações, umas serão letais para o vírus, mas outras, por outro lado, persistem e resultam nas rápidas evoluções que estes vírus apresentam. As múltiplas estirpes genéticas que cada vírus pode apresentar num só hospedeiro são a resposta à pressão seletiva gerada pelo sistema imunitário, conseguindo assim escapar à ação deste (Xu, Zhang e Wang, 2004).

- HCoV NL63

Descoberto em 2004 por van der Hoek na Holanda, foi isolado de uma criança de sete meses com rinite, conjuntivite e febre, indicando o raio-X torácico tratar-se de uma bronquiolite (van der Hoek *et al.*, 2004). Após a sua identificação foi detetado em mais oito países e estima-se uma prevalência a rondar entre 1,5 e 3%, onde as crianças com idade inferior a cinco anos são as mais suscetíveis. A sua distribuição e frequência podem variar de estação para estação e de ano para ano (Chiu *et al.*, 2005; Vabret *et al.*, 2006; van der Hoek *et al.*, 2006). É o coronavírus mais prevalente em crianças, onde para além de bronquiolite é agente causador de croupe (Kaiser *et al.*, 2005; König *et al.*, 2004).

- HCoV HKU1

Novo grupo composto por dois coronavírus atualmente já identificado em 4 continentes, o que o torna um vírus endémico na espécie humana. É agente causador de pneumonia adquirida na comunidade com uma prevalência entre os 2.4 e 5% e predomina entre os meses de Outono e Primavera, inclusive. As crianças com menos de

dois anos e os idosos com doenças crônicas, nomeadamente endócrinas, pulmonares e cardíacas, são os mais suscetíveis (Kuypers *et al.*, 2007; P. C. Y. Woo *et al.*, 2005).

Diferencia-se das restantes pneumonias por coronavírus pela menor severidade da doença e por estar restrita ao trato respiratório. Estes dois fatores tornam a sua hospitalização mais breve e a recuperação mais rápida que os 7 a 10 dias característicos dos restantes CoV. A mortalidade atinge uma minoria dos doentes, por norma com doenças crônicas pré-existentes (Woo *et al.*, 2005).

Um outro estudo indica que a taxa de coinfeção secundária pode chegar até 45% dos casos (P. C. Y. Woo *et al.*, 2005).

- MERS HCoV

É o coronavírus mais recentemente descoberto, tendo sido reportado pela OMS em setembro de 2012 como causador de PAC severa. Trata-se de uma estirpe com origem em linhagens infantantes de humanos, estando já descrita a transmissão entre a nossa espécie (WHO, 2012; Zaki *et al.*, 2012).

Clinicamente muito semelhantes ao SARS, oscilando os casos entre doença moderada até fulminante. Febre e tosse seca são características da fase inicial da infeção e que, nos casos graves, evolui para estados pneumónicos em alguns dias. A febre alta parece ser indicativa do envolvimento pulmonar e de pior prognóstico (Assiri *et al.*, 2013; Centers for Disease Control and Prevention., 2013).

Tratou-se de um surto epidémico que afetou sobretudo países do Médio Oriente e apenas na Arábia Saudita foram confirmados 23 casos de infeção ente abril e maio de 2013. É um vírus com alta propensão para se propagar em unidades de cuidados de saúde e as taxas de mortalidade até agora estudadas apontam para valores na ordem dos 65% (Assiri *et al.*, 2013).

A nível laboratorial é associado a este vírus situações de trombocitopenia e de elevação das transaminases do dímero-D (Tsang *et al.*, 2003).

Pensa-se que os antivíricos inibidores da protease são os de maior eficácia (lopinavir e ritonavir) com administração concomitante de interferão alfa e beta. Há ainda poucos estudos em relação à capacidade terapêutica da ribavirina nesta situação (Chu *et al.*, 2004).

4.5.2 Metapneumovírus

Identificado em 2001 por van der Hoogen (van den Hoogen *et al.*, 2001). O metapneumovírus humano é considerado um vírus respiratório apesar de circular na espécie humana há pelo menos cinquenta anos. Vírus ARN que infeta as porções inferior e superior do trato respiratório, pertencente à família *Paramyxoviridae*, é composto por oito genes que codificam para nove proteínas. É responsável por exacerbações de crises asmáticas e de doenças pulmonares crônicas, por causar bronquite, bronquiolite, croupe e pneumonia ainda na infância e é passível de reinfeção na idade adulta. As suas infecções são por norma ligeiras e autolimitadas – contudo nas populações de risco e imunodeprimidos pode causar variantes mais severas da doença (van den Hoogen *et al.*, 2001). Considerado ubíquo, reconhece-se também a sua importância em surtos, nomeadamente nos meses de janeiro, fevereiro e março em climas temperados (Konig *et al.*, 2004).

Existem dois genótipos A e B conforme a variabilidade que as glicoproteínas de superfície G (ligação) e F (fusão) apresentem - podem circular alternada ou simultaneamente, dominando apenas um destes durante surtos epidémicos (van den Hoogen *et al.*, 2004). De facto, a glicoproteína F medeia a ligação aos recetores celulares e o processo de fusão com a célula, ao passo que a glicoproteína G é requerida para a virulência do metapneumovírus modulando negativamente a resposta imunitária celular reduzindo a síntese de moléculas pró-inflamatórias como o interferão, as citocinas e as quimiocinas (Bao *et al.*, 2008; Cox e Williams, 2013).

A infeção nos adultos e crianças é muito semelhante e pode variar entre formas assintomáticas – 71% das infeções em indivíduos saudáveis são assintomáticas, baixando para 44% para a população idosa e 31% em doentes de alto risco - até doença respiratória superior e pneumonia severa. Os sintomas mais comuns são tosse que pode ou não ser purulenta, congestão nasal, dispneia e muitas vezes sibilos – também estão relatados casos de rinite, faringite, otite média e conjuntivite. Os idosos, doentes cardíacos e imunodeprimidos têm tendência a apresentar sibilos maiores e uma dispneia mais marcada (Hall, *et al.*, 2011; Pelletier *et al.*, 2002; van den Hoogen, 2007).

A carga viral do metapneumovírus parece ser também um fator de maior gravidade da infeção, estando associada a febres mais altas, necessidade de uso de broncodilatadores e aumento do tempo de internamento – baixos títulos virais também

estiveram associados a doença respiratória e à sua sintomatologia mais ou menos grave, pelo que estes dados necessitam ainda de maior esclarecimento (Martin *et al.*, 2008).

A infeção em adultos pode variar entre os 3 e os 7%. Mais incidente em crianças e mais severa em idosos com mais de 65 anos ou pacientes com doença crónica subjacente – doentes cardíacos, doentes pulmonares e imunodeprimidos (Widmer *et al.*, 2012).

Aos cinco anos, quase todas as crianças demonstram serologicamente infeção pelo metapneumovirus. É o segundo agente mais prevalente em infeções respiratórias em crianças até um ano de idade, seguindo-se ao VRS (Esper *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2006).

Estudos em ratinhos indicaram que os vírus infetantes dos espécimes mais velhos apresentavam maiores índices de replicação e que os hospedeiros mantinham níveis mais baixos de anticorpos neutralizantes e interferão gama com um aumento na produção de interleucina-4 e aparecimento de linfócitos CD4+. Este dado pode ser revelador que a imunidade tenha uma maior supremacia na proteção do hospedeiro do que propriamente a imunidade humoral mediada por anticorpos, não sendo nenhuma das duas capaz de conferir uma proteção completa dado que as reinfeções podem ocorrer com certa frequência. Estas revelações carecem de provas que permitam fazer a analogia para os humanos (Darniot *et al.*, 2009; Lüsebrink *et al.*, 2010).

A sua deteção é feita por meio da amplificação do seu material genético em RT-PCR. Tem um crescimento demasiado lento em cultura e com efeitos citopáticos pouco vinculados. Os imunoensaios não têm uma sensibilidade aceitável para serem considerados métodos padrão (Chiu *et al.*, 2007).

A sua distribuição sazonal coincide ou surge imediatamente após o pico sazonal do vírus respiratório sincicial, existindo assim a probabilidade de uma infeção dupla viral, com possível aumento da severidade da doença e necessidade de tratamento na Unidade de Cuidados Intensivos (Semple *et al.*, 2005; Xepapadaki *et al.*, 2004).

A terapêutica para o metapneumovirus incide sobretudo em medidas de suporte, estando o uso de fármacos antivirais reservados para casos mais graves. A ribavirina, apesar da sua toxicidade e teratogenicidade, tem revelado bons resultados *in vitro*. A imunoglobulina *palivizumab*, analogamente a outros vírus, é usada profilaticamente em crianças com risco acrescido de desenvolver doença severa (Wyde *et al.*, 2003). Nos últimos anos foi desenvolvido um anticorpo monoclonal, o Motavizumab, específico para a neutralização da glicoproteína F, de fusão, que provou em modelos animais,

reduzir a carga viral pulmonar e a magnitude da sintomatologia e hiperreatividade brônquica – este anticorpo monoclonal revelou ser um agente profilático e terapêutico muito eficaz (Carbonell-Estrany *et al.*, 2010; Ulbrandt *et al.*, 2006).

Mais recentemente tem sido estudada a combinação da ribavirina aerossolizada com o uso de imunoglobulinas intravenosas e tem demonstrado boas indicações no tratamento de casos graves. É necessário contudo continuar os ensaios clínicos sobre a verdadeira eficácia e segurança desta terapêutica, pois é uma terapia dispendiosa e com possíveis efeitos adversos (Wyde *et al.*, 2004).

A glicoproteína de superfície F é o antígeno alvo que medeia a neutralização e proteção por parte do sistema imunitário e, portanto, o desenvolvimento de várias vacinas – vivas atenuadas, inativadas, compostas por subunidade virais e recorrendo a vetores virais - com base na sua neutralização tem revelado bons resultados em ensaios clínicos em modelos animais (Herfst e Fouchier, 2008). No caso das vacinas vivas atenuadas, estas mimetizam a infeção natural, que por sua vez também não é capaz de induzir uma imunidade permanente, sendo este o desafio mais concreto das equipas de investigação (van den Hoogen *et al.*, 2007).

4.5.3. Rinovírus

Pertencente à família *Picornaviridae* e género *Enterovírus*, é um conhecido colonizador do trato respiratório e agente etiológico de constipações com 153 serotipos já identificados e é frequentemente detetado em amostras nasofaríngeas de crianças com doença respiratória – bronquites, bronquiolites, pneumonias, exacerbações de asma, DPOC e fibrose cística (Arden e Mackay, 2010; Lukashev, 2010; van Benten *et al.*, 2003). É responsável por infeções graves em idosos e imunodeprimidos que podem, em alguns casos, culminar com a morte do doente, especialmente neste último grupo (Kaiser *et al.*, 2006).

Microrganismo ubiquitário, constituído por três grupos denominados de A, B e C, prevalente ao longo de todo ano e em todas as regiões do planeta, apresentando o RVH-C um ligeiro pico sazonal nos meses de inverno (Lau *et al.*, 2010; Weigl *et al.*, 2007). A sua transmissão é feita entre humanos ocorrendo por meio de contactos diretos, objetos contaminados ou através de aerossóis decorrentes de secreções respiratórias contaminadas (Carvalho *et al.*, 2007; Hayden, 2004; Tsolia *et al.*, 2004).

Vírus com tropismo para o trato respiratório, maioritariamente ligado a infecções do trato respiratório superior, tendo sido recentemente descrita a sua capacidade de colonizar também as vias inferiores, onde a temperatura corporal é ligeiramente maior (Johansson *et al.*, 2010; Papadopoulos *et al.*, 2000). No seu processo fisiopatológico, ao contrário de outros vírus respiratórios, o rinovírus não se distingue pela fratura na continuidade do epitélio respiratório – ao invés disso, o seu mecanismo consiste na ativação indireta do sistema imunitário com a produção e libertação de citocinas e quimiocinas, conhecidas moléculas anti-inflamatórias (Heikkinen e Järvinen, 2003).

Por cada criança e adulto estimam-se 1.2 e 0.7 infecções por ano por rinovírus, respetivamente e são fatores de risco para contrair infeção: historial alérgico ou atópico, asma, estilo de vida, dieta, idade e imunidade reduzida - provavelmente devido à maior hipereatividade inflamatória à exposição antigénica e consequentemente a uma menor eficácia na resposta imunitária a infeções virais (Carman e Mahony, 2007). A incidência do rinovírus em crianças é de 90% em casos de exacerbações asmáticas (Bizzintino *et al.*, 2011) e de dois terços nas exacerbações de DPOC (Mak *et al.*, 2011). A prevalência assintomática do vírus na comunidade varia entre 12 a 33% das crianças até aos quatro anos, sendo estes valores menores no caso de adultos (Jackson *et al.*, 2012; van Bentem *et al.*, 2003). Geralmente, a infeção por um serotipo confere imunidade para o resto da vida (Carman e Mahony, 2007).

Está demonstrado que os mecanismos de sensibilização alérgica prévios têm uma relação causal com episódios de sibilos mais graves causados pelo RVH. Por outro lado, como já foi referido, algumas infeções virais podem também desencadear o processo de hipersensibilização (Jackson *et al.*, 2012). Desta forma, pode-se depreender que os episódios de bronquiolite na infância predispõem não só para o aparecimento de asma mas também de sensibilização alérgica (Grayson *et al.*, 2007). Está demonstrada a correlação direta entre o nível dos anticorpos IgE (responsáveis pela resposta alérgica) e as crianças com cargas de RVH maiores (Heymann e Kennedy, 2012).

O RVH-C é grupo mais prevalente, estando identificado em 44 a 49% dos casos positivos de rinovírus, seguindo-se os grupos A (36%) e B (10%). Nos casos que evoluem para virémia – cerca de 12% das crianças com infeção respiratória superior (Esposito *et al.*, 2013; Xatzipsalti *et al.*, 2005) - o rinovírus do grupo C revelou um aumento da prevalência para dois terços (66%) dos casos, o que o torna hipoteticamente um grupo mais virulento - os casos com virémia estão associados a maiores cargas

virais e maior severidade dos sintomas (Bizzintino *et al.*, 2011; Esposito *et al.*, 2013; Lauinger *et al.*, 2013).

O RVH-B está associado a doenças benignas e autolimitadas do trato respiratório superior não necessitando de tratamento hospitalar, razão pela qual a sua prevalência pode estar subvalorizada (Lee *et al.*, 2012; Miller *et al.*, 2011).

Muitas vezes isolados em casos de infecções mistas – 20% dos casos de rinovírus – sendo os agentes coinfectantes mais comuns o *Streptococcus pneumoniae*, o vírus parainfluenza, o vírus respiratório sincicial e o adenovírus – as infecções múltiplas muitas vezes acarretam sintomas mais agravados e uma resolução mais morosa dos mesmos (Carman e Mahony, 2007; Tanner *et al.*, 2012).

O diagnóstico é difícil sendo para esse fim utilizada a técnica de PCR (Malmström *et al.*, 2006; V. Peltola *et al.*, 2008). Antes do desenvolvimento das técnicas de amplificação molecular, o rinovírus era pesquisado por meio de exames culturais, detecção de antígenos e ensaios imunoenzimáticos, mas com muito menor rendimento face aos resultados das novas técnicas (Nohynek *et al.*, 1991; O Ruuskanen *et al.*, 1992; Turner *et al.*, 1987). Esta poderá ser a justificação da desvalorização da importância clínica do rinovírus até ao fim dos anos 90.

Não há ainda disponível uma terapêutica antiviral indicada para o tratamento das infecções por rinovírus, tendo grande parte dos estudos dos últimos anos relativos a este assunto sido enviesados pela toxicidade, interações ou falta de eficácia das moléculas testadas (Food and Drug Administration, 2013).

O vapenavir é um agente antiviral atualmente estudado em ensaios clínicos nível 2A (em voluntários saudáveis), de toma oral e que tem demonstrado ser seguro, apresentando uma boa eficácia na redução dos títulos do rinovírus. Na sua ação, o vapenavir inibe a entrada do material genético na célula do hospedeiro ao neutralizar a proteína viral de ligação VP1 (Food and Drug Administration, 2013).

As dificuldades na produção de vacinas está no elevado número de diferentes serotipos do rinovírus sem que exista um epítipo antigénico transversal a todos eles passível de estimular a produção de anticorpos protetivos e neutralizantes (Rohde, 2011). Novamente, a proteína VP1 tem sido o alvo sugestivo para novas terapêuticas, procurando-se desenvolver anticorpos adequados para este recetor central (Edlmayr *et al.*, 2011).

4.5.4. Bocavírus

Vírus ubiquitário de ADN organizado em cadeia simples, detetado pela primeira vez na Suécia em 2005 por Allander em crianças através de aspirados nasofaríngeos (Allander *et al.*, 2005). Pertencente à família *Parvoviridae*, partilha com os seus homólogos certas características, nomeadamente pela sua persistência no organismo após a resolução dos sintomas e pela capacidade de disseminação sistémica – relacionado com sintomas sugestivos de patologia respiratória, mas também vômitos e diarreia, podendo ser detetado em fezes e no sangue do hospedeiro. Por norma apresenta títulos virais baixos, apesar de alguns casos de altos níveis sobretudo em situações pneumónicas – o que faz da PCR o método de eleição e que alguns métodos de diagnóstico sejam inúteis para a sua deteção. Não é replicável *in vitro* nem em modelos animais. Apesar do seu papel em patologia humana não estar completamente estabelecida, há fortes indícios que apontam para que por vezes se comporte como um vírus passageiro e assintomático e noutros casos como microrganismo causador de doença respiratória (Allander *et al.*, 2007; Arnold *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2006).

Identificado maioritariamente em casos agudos de bronquite, bronquiolite e broncopneumonia em crianças com sibilos (Allander *et al.*, 2005; Kesebir *et al.*, 2006). Dos casos de bronquiolite infantil analisados, um estudo de prevalência revelou a presença do BOVH em 12,5% dos casos, o que o coloca como o terceiro agente mais incidente nesta patologia; 41,7% dos infetados pelo bocavírus neste estudo indicaram também um segundo vírus respiratório, o que aparentemente é fator preditivo de maior severidade da doença. Tal como os sintomas, os fatores de risco para desenvolver doença grave – crianças prematuras e/ou asmáticas - apresentam uma grande analogia com o vírus respiratório sincicial (Jacques *et al.*, 2008).

Maioritariamente detetado em crianças entre os seis meses e os dois anos, o que é insinuante da proteção conferida pelos anticorpos maternos (Allander *et al.*, 2005; Foulongne *et al.*, 2006). Os dados serológicos até agora disponíveis indiciam que as crianças até aos quatro anos já tenham experienciado pelo menos uma infeção por bocavírus (Kahn *et al.*, 2008). A sua prevalência em patologia respiratória ainda não está estabelecida, tendo já sido registados valores tão díspares como 1,5 e 19%, assim como também não está ainda assente qual a sua sazonalidade, se é que existe (Allander *et al.*, 2007; Fry *et al.*, 2007; Manning *et al.*, 2006).

Por revelar está ainda a sua preponderância da infecção em doentes imunodeprimidos e a sua presença aparenta ser indicativa de um caso reinfeção ou persistência viral do que propriamente de uma primoinfecção (Allander, 2008).

4.6. Infeções múltiplas e Infeções mistas

As complicações resultantes de uma infecção respiratória viral podem resultar numa predisposição para uma superinfecção secundária bacteriana que piora significativamente o prognóstico do paciente. O aumento da produção do muco, a redução da atividade ciliar, a perda da integridade tecidual e a acumulação de certos fatores inflamatórios tornam as vias respiratórias um meio que otimiza a propagação de bactérias (Goulding *et al.*, 2011). As pneumonias severas de etiologia mista estão estatisticamente mais associadas à presença do rinovírus e coronavírus (Templeton *et al.*, 2005).

No trato respiratório superior estão muitas vezes presentes na zona da nasofaringe um vasto leque de microrganismos comensais e outros potencialmente patogénicos. Existe um equilíbrio sustentado em múltiplas relações complexas competitivas (associações negativas) e de simbiose (associações positivas) entre a flora presente nestes tecidos, alterando-se o equilíbrio quando há uma variação do ecossistema, podendo resultar na proliferação de patogénios, invasão de novos tecidos e em doença respiratória. É possível também que o superdesenvolvimento de um microrganismo tenha consequências na flora autóctone do sistema respiratório que têm uma responsabilidade direta na inibição do crescimento de outros agentes, neste caso, vírus (Kuss *et al.*, 2011).

Os fatores genéticos, a idade, o ambiente, a vacinação e hábitos tabágicos são fatores relacionados com o hospedeiro que podem quebrar este ténue equilíbrio (García-Rodríguez e Fresnadillo Martínez, 2002).

Admite-se que, utilizando métodos convencionais de pesquisa de microrganismos, um paciente internado com um diagnóstico de PAC desenvolva uma infecção secundária em 5 a 11% dos casos, mas possa chegar aos 33% com o uso de PCR (File Jr, 2003; Johansson *et al.*, 2010).

Estudos de Johansson e Jennings (Tabela III) foram detetadas infeções mistas com pelo menos dois agentes em dois terços dos doentes, sendo que em 86% destes foi

identificado o *S. pneumoniae*, podendo então ser considerado o agente bacteriano mais comum em infecções mistas com agentes virais. Também em pacientes com pneumonias graves por *S. pneumoniae*, os vírus foram os co-patogénios mais associados (Jennings *et al.*, 2008; Johansson *et al.*, 2010).

Tabela III – Infecções mistas bactéria-vírus num universo de 304 indivíduos com CAP, adaptado Jennings *et al.*, 2008

	Influenza A	Influenza B	Rinovírus	VRS	Adenovírus	VPI H	Coronavírus
<i>S. pneumoniae</i>	5	1	11	4	1	3	2
<i>Clamidia pneumoniae</i>	1	-	-	-	-	-	-
<i>H. influenzae</i>	1	-	2	1	2	1	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	2	-	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-	1	-	-	-

As interações entre vírus e bactérias é uma associação positiva em que um dos microrganismos cria uma condição favorável para o crescimento do outro e, apesar da maior extensão ocorrer dos vírus para as bactérias, o recíproco também é válido. Uma infecção viral pode predispor o epitélio respiratório à colonização por parte de algumas bactérias com capacidade adesiva ao epitélio respiratório, como é o caso do pneumococo, aumentando a capacidade de adesão deste último ao trato respiratório mesmo uma semana depois da primoinfecção (Avadhanula *et al.*, 2006; Hament *et al.*, 2005; Stark *et al.*, 2006).

Nas infecções pelo vírus influenza o *Streptococcus pneumoniae* e o *Staphylococcus aureus* são os microrganismos coinfectantes mais comumente encontrados. Os efeitos aditivos das doenças tornam o prognóstico do doente consideravelmente pior – aparecimento de efusões pleurais, bacteriemia, necrose acentuada, deposição alveolar de fibrina e envolvimento de múltiplos lobos pulmonares (Louria *et al.*, 1959; McCullers e Rehg, 2002). A pneumonia por vírus influenza pode ser fatal, contudo, é a superinfecção bacteriana que aumenta dramaticamente a sua mortalidade – um exemplo concreto foi a enorme mortalidade causada pela pneumonia pneumocócica secundária ocorrente da “Gripe Espanhola” em 1918 e 1919 (McCullers,

2006). As infecções bacterianas secundárias são mais comuns durante surtos pandémicos com estirpes altamente virulentas (Tumpey *et al.*, 2005).

Por serem parasitas intracelulares muitas vezes os vírus necrotizam as células infetadas, destruindo a integridade do epitélio e conduzindo à perda da sua função de barreira e à exposição da matriz extracelular a estes agentes – meio rico e ideal para o seu crescimento e propagação (Plotkowski *et al.*, 1986). Um outro modelo de associação positiva entre vírus e bactérias está relacionado com o dano nas células ciliares por parte dos primeiros – assim, reduzem a atividade e a coordenação destas células comprometendo a *clearance* mucociliar e normal eliminação dos microrganismos (Levandowski *et al.*, 1985; Pittet *et al.*, 2010).

No seu processo infeccioso os vírus reduzem as quantidades de surfactante pulmonar no hospedeiro o que leva ao bloqueio das vias aéreas de menor calibre e ao estimularem a secreção de mucinas e fibrina induzem a formação de edema (Harford e Hara, 1950; Levandowski *et al.*, 1985; Loosli *et al.*, 1975). Os vírus interferem também com a imunidade inata ao alterarem a produção de péptidos antimicrobianos produzidos pela mucosa respiratória aquando de um estímulo antigénico bacteriano e afetam a produção e atividade das citocinas inflamatórias. Por outro lado, desencadeiam respostas pró-inflamatórias que aumentam a expressão de proteínas de adesão, como o ICAM-1, atrás referida como uma molécula responsável pela entrada de vírus e bactérias nas células do hospedeiro (Ganz, 2003).

O vírus influenza e parainfluenza pela sua capacidade de sintetizar moléculas de neuraminidase facilitam a entrada das bactérias nas células do hospedeiro, auxiliando deste modo a sua adesão ao epitélio respiratório (Alymova *et al.*, 2005; V. T. Peltola e McCullers, 2004).

A fibrina e o fibrinogénio, moléculas presentes no processo regenerativo pós infeção viral servem ao mesmo tempo de âncora molecular para o pneumococo, justificando então o porquê da infeção secundária poder decorrer até uma semana após recuperação completa da infeção primária (McCullers e Bartmess, 2003).

Por sua vez as bactérias podem também aumentar a suscetibilidade a infeções virais consequentes, ao facilitarem a entrada de certos vírus – como o rinovírus - nas células epiteliais (Sajjan *et al.*, 2006).

Relativamente à bronquiolite causada pelo vírus respiratório sincicial há estudos que apontam para coinfeções virais por parte do metapneumovírus e rinovírus (Tabela

IV) e coronavírus – ainda não está bem definido se a presença de um segundo agente viral piora o prognóstico do paciente (Nascimento *et al.*, 2010; Richard *et al.*, 2008).

Nas crianças com pneumonias por influenza a infecção secundária bacteriana mais comum é a otite média aguda por *Streptococcus pneumoniae*, seguindo-se a sinusite e a pneumonia adquirida na comunidade, respetivamente – todas causadas pelo mesmo agente, que está presente em 44% das infecções secundárias concomitantes com o vírus influenza. Os vírus são responsáveis por 54% dos episódios de coinfeção (Heikkinen e Chonmaitree, 2003; Michelow *et al.*, 2004).

As infecções duplas virais ocorrem mais frequentemente durante o inverno, época em que há mais vírus respiratórios circulantes (Meerhoff *et al.*, 2006). São um tema interessante de futuro, uma vez que uns estudos apontam para um pior prognóstico do paciente e desenrolar da doença (Templeton *et al.*, 2005; Wiemken *et al.*, 2012).

Tabela IV – Infecções múltiplas virais num universo de 77 crianças com bronquiolite, adaptado Nascimento *et al.*, 2010

Vírus	Infeção simples	Coinfeção	Total	%
VRS	26	23	49	63,6%
Rinovírus	5	21	26	33,8%
Enterovírus	1	15	16	20,8%
Metapneumovírus	4	8	12	15,6%
Bocavírus	1	8	9	11,7%
Parainfluenza 3	0	6	6	7,8%
Influenza A	1	1	2	2,6%
Coronavírus	0	2	2	2,6%
Parainfluenza 1	0	1	1	1,3%
Negativo	-	-	5	6,5%

5. Grupos Especiais

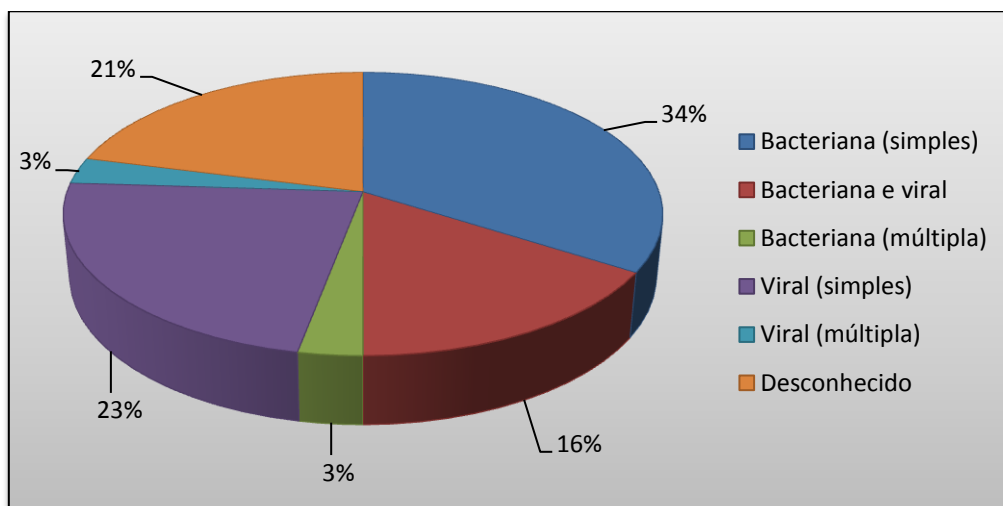
5.1. Crianças

As crianças são as mais afetadas pelas infecções respiratórias virais. Em países desenvolvidos crê-se que até à idade pré-escolar estejam expostas de seis a dez infecções anuais e na idade escolar três a cinco vezes para o mesmo período (Glezen e Denny, 1973). As infecções respiratórias virais rondam os 42% nesta faixa etária (Figura V) e tendem a afetar as crianças de menor idade e apresentar sibilos mais frequentemente (I. Michelow *et al.*, 2004; Wiemken *et al.*, 2012).

Os lactentes e as crianças são especialmente vulneráveis ao risco de infeção pela menor dimensão dos cornetos e seios peri-nasais e ainda pela reduzida imunidade adquirida que apresentam pela falta de uma exposição prévia a estes agentes (Hussell *et al.*, 2012).

Num estudo de Don e colaboradores, em 68 crianças com uma média de idades de 3,8 anos e com sintomas e sinais clínicos indicativos de PAC, o diagnóstico etiológico através de imunoensaios enzimáticos indicou a presença de bactérias em 69% dos casos, vírus respiratórios em 42% e infeções mistas bactéria-vírus em 31% (Don *et al.*, 2009). Nas crianças com sintomas respiratórios, 45 a 66% dos casos apresentavam pelo menos um vírus identificado, sendo que entre 23 a 33% das crianças internadas tinham uma infeção mista viral e bacteriana (Virkki *et al.*, 2002).

Figura V – Etiologia de infeções respiratórias inferiores num estudo de 154 crianças hospitalizadas, adaptado de Michelow *et al.*, 2004



O metapneumovirus é um dos vírus com maior preponderância em patologia respiratória pediátrica, estando envolvido entre 1 a 5% das infeções respiratórias superiores e 15% nas inferiores, responsável por casos de bronquiolite, bronquite, exacerbações asmáticas e PAC em crianças (Boivin *et al.*, 2003; Halburnt-rush *et al.*, 2004).

5.2. Idosos

As comorbilidades tornam a população idosa mais suscetível às infeções virais, nomeadamente a pneumonias – a menor frequência dos reflexos da tosse e espirro e um estado imunitário geralmente mais fraco permitem uma disseminação viral e um estado inflamatórios aumentados (Falsey e Walsh, 2006; Hussell *et al.*, 2012).

Estudos feitos nos EUA apontam para 300 000 hospitalizações e 36 000 mortes anuais nos EUA, devido ao influenza (Thompson *et al.*, 2004). As manifestações nesta faixa etária podem variar dos sintomas clássicos, sem febre e com possível alteração do estado mental do paciente, alterações do equilíbrio, dores abdominais, incontinência urinária e descompensação de patologia pré-existentes (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003). As queixas gastrointestinais, febre e mialgias ajudam a excluir outros vírus respiratórios (Walsh, *et al.*, 2002).

O RSV, o segundo agente mais preponderante na pneumonia viral em adultos, é diagnosticado em 11% dos casos de pneumonia nos meses de Inverno e é responsável também por pequenos surtos em lares, onde se crê que infete 10% dos seus clientes anualmente e que 10% destes casos conduzam a pneumonias (Falsey e Walsh, 2000). Num estudo realizado em idosos monitorizados, a infeção por RSV ocorreu em 3 a 7% dos idosos saudáveis e 4 a 10% em idosos de alto risco (Walsh *et al.*, 2005).

5.3. Doentes crónicos

Atualmente há evidências científicas sólidas que os vírus respiratórios podem, numa situação de infeção, ser causa major de exacerbações de doenças crónicas pulmonares como a asma, a DPOC e a fibrose cística, ao desequilibrarem o sistema imunitário e o equilíbrio homeostático do hospedeiro (Singanayagam *et al.*, 2012).

Algumas correntes científicas acreditam que estas infecções virais podem desencadear o desenvolvimento de doenças pulmonares, tendo-se já tentado estabelecer uma associação entre a infecção pelo VRS o pelo rinovírus na infância e o aparecimento de asma e sibilos (Jackson *et al.*, 2008). Por outro lado, há provas que sugerem que a predisposição para a asma e para a suscetibilidade a infecções virais esteja relacionada com fatores genéticos (Jackson *et al.*, 2012; Thomsen *et al.*, 2009).

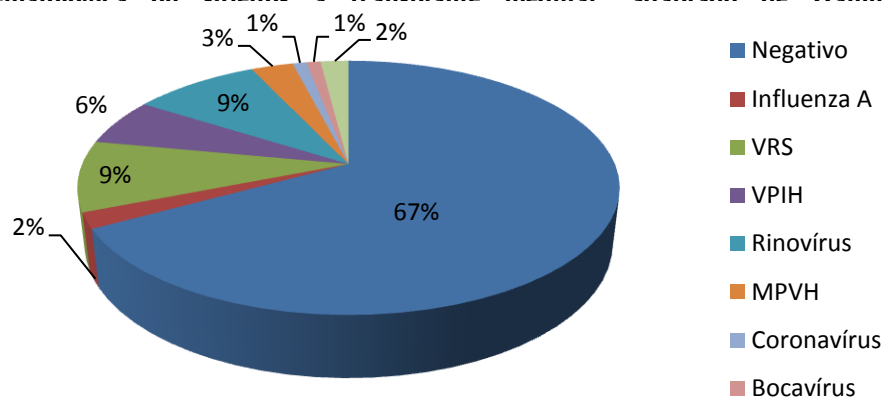
O vírus influenza está também relacionado com a exacerbação de crises de pacientes com fibrose cística – estes pacientes têm indicação para iniciar precocemente a terapêutica com osetalmivir, motivo pelo qual o vírus não surte um grande impacto na situação clínica do paciente (Etherington *et al.*, 2013).

5.4. Imunodeprimidos e transplantados

Os vírus respiratórios são agentes muito importantes na morbidade e mortalidade nos doentes transplantados. Estes doentes – com disfunção imunitária herdada ou adquirida quer por agentes patológicos quer induzida por fármacos - têm um risco significativamente maior de contrair uma infecção grave e com maiores complicações. Muitas vezes a severidade da doença está relacionada com o aparecimento de uma infecção secundária bacteriana, fúngica ou mesmo viral (Boeckh, 2009; Hammond *et al.*, 2012; Ison, 2007; Kim *et al.*, 2007). A infecção pelos vírus respiratórios tem também uma relação estabelecida com uma maior probabilidade de rejeição dos órgãos transplantados e de desencadear um processo de bronquiólite obliterante no caso do órgão em causa ser um pulmão (Palmer *et al.*, 1998).

A taxa de infecção da maioria dos vírus respiratórios nestes doentes é muito semelhante à dos indivíduos imunocompetentes (Figura VI), sendo que têm uma maior tendência para desenvolver doença mais severa e persistente, possivelmente pela disfunção na *clearance* de patógenos (Hammond *et al.*, 2012). Ainda não há um valor consensual relativamente à mortalidade neste grupo, podendo a disparidade dos resultados estar associada aos diferentes serotipos (Huck *et al.*, 2006).

Figura VI – Caso de estudo relativo a infecções virais em 87 adultos com doença hematológica ou enxaite a transplante medular adaptado de Hammond *et al.*, 2012



Os vírus mais importantes neste processo são o VRS, o influenza, o adenovírus e o parainfluenza – a sua infecção resulta nos casos mais agravados infecções respiratórias inferiores, sobretudo pneumonias graves com que em muitos casos podem conduzir ao aparecimento de DPOC ou mesmo a falha respiratória com desfecho mortal (Kim *et al.*, 2007).

Nos transplantados de medula, as infecções respiratórias virais do trato respiratório inferior causadas pelos “antigos” vírus estão associadas a mortalidades de 25-45% (Kim *et al.*, 2007).

O vírus respiratório sincicial é um agente infeccioso muito comum em imunodeprimidos, responsável por infecção respiratória do trato inferior em cerca de 38% dos doentes transplantados medulares e mortalidade em 32% destes (Khanna *et al.*, 2008).

O vírus parainfluenza humano é um agente responsável por causar pneumonias em imunodeprimidos – um terço dos 2 a 7% dos transplantados infetados -, estando normalmente a sua severidade relacionada com a magnitude da imunossupressão e, no caso dos transplantados medulares, o tempo decorrente desde a cirurgia – quanto mais próxima estiver o começo da infecção com a cirurgia, maiores complicações trará a infecção. Estudos indicam que a pneumonia causada pelo parainfluenza tem uma taxa de mortalidade de 34%, aumentando para 55% quando a infecção ocorria nos cem dias posteriores ao transplante. Os sintomas respiratórios superiores, como a congestão nasal e a rinorreia, ajudam a diferenciar da pneumonia causada pelo citomegalovírus, agente oportunista característico (Srinivasan *et al.*, 2011; Ustun *et al.*, 2012).

O RVH foi detetado em 22,3% dos doentes transplantados até ao centésimo dia após o transplante, dos quais 40% apresentam uma forma sintomática da infeção (Milano *et al.*, 2010).

Apesar de todas as dificuldades, a imunização ativa parece ser a forma ideal de reduzir a morbilidade e mortalidade nos doentes imunodeprimidos, sendo que estão limitados a vacinas compostas por vírus inativados. A imunização passiva com imunoglobulinas demonstrou ser eficaz nos doentes leucémicos e transplantados e está aprovada para os doentes de alto risco (como é o caso destes doentes), quando disponível – o VRS é um dos agentes para os quais existe uma imunoglobulina específica disponível, o *palivizumab* (Hirsch *et al.*, 2013).

O uso de ribavirina aerossolizada é o único tratamento antiviral disponível e o seu uso está restrito apenas para os vírus respiratório sincicial e parainfluenza (Hirsch *et al.*, 2013).

6. Terapêutica

6.1. Terapêutica Profilática

A prevenção da doença por via da vacinação é o cenário mais ideal, recorrendo-se à terapêutica antiviral no caso de esta falhar (Govorkova e McCullers, 2013). No caso do vírus influenza, a vacina antigripal tem eficácia comprovada na redução da morbidade e mortalidade ao fim de duas semanas e persiste por um período até um ano. Deve ser administrada todos os anos, de preferência em outubro (Govaert *et al.*, 1994; K. L. Nichol *et al.*, 2003; Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003).

A vacina antigripal tem uma eficácia de 70 a 100% em adultos saudáveis, mas esta diminui nas populações de risco. No idoso, apesar da perda de eficácia, a vacina continua a reduzir de forma significativa o aparecimento de pneumonia (53%), da necessidade de hospitalização (50%) e na mortalidade (68%) (Crouch, 2000; Gross *et al.*, 1995). A sua administração recomenda-se para indivíduos suscetíveis a complicações pós-infecciosas – mais de 65 anos de idade, residentes ou internamentos prolongados em instituições de saúde, sem-abrigo, doentes crónicos pulmonares, cardíacos, hepáticos ou renais, diabéticos tipo II, imunodeprimidos, crianças e adolescentes a fazer salicilatos – e a indivíduos com alta propensão para transmissão do vírus a pacientes de alto risco – pessoal dos serviços de saúde e coabitantes de pessoas de alto risco (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003).

Na quimioprofilaxia da gripe estão aprovados três medicamentos: a amantadina, a rimantadina - inibidores da proteína M2 - e o oseltamivir - inibidor da neuraminidase. Em Portugal apenas está disponível a amantadina na prevenção do influenza tipo A, e o oseltamivir, para os tipos A e B. A quimioprofilaxia não deve, em caso algum, substituir a vacinação e é indicado em grupos de risco não passíveis de vacinação ou complemento da vacinação ou durante surtos ou epidemias em doentes de risco (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003).

A produção de vacinas é insuficiente para os vírus respiratórios e não tem havido a capacidade de acompanhar as alterações sazonais destes (Hussell *et al.*, 2012).

A cessação tabágica é também uma medida preventiva da maior importância (Sociedade Portuguesa de Pneumologia, 2003).

6.2. Terapêutica Hospitalar

Não é ainda consensual o facto de os antibióticos ajudarem ou impedirem a convalescença do paciente em casos de infeções virais, uma vez que, ao eliminarem a flora comensal, reduzem também a proteção imunitária que conferem, pelo seu papel na ativação de alguns parâmetros inflamatórios (Ichinohe *et al.*, 2011).

Recomenda-se o começo da terapêutica até duas horas do diagnóstico de PAC – o seu atraso ou a escolha de um fármaco inadequado estão associados a piores prognósticos e maior mortalidade (Leroy *et al.*, 1997; Ruiz *et al.*, 1999).

O uso de antivirais está indicado para pacientes imunodeprimidos e para casos graves, e apesar de eficazes o tratamento implica a sua administração numa fase precoce da infeção e que o seu uso está limitado à sua toxicidade (Hussell *et al.*, 2012). O uso dos agentes antivirais está descrito na Tabela V, bem como o seu espectro, as suas dosagens e efeitos adversos a observar.

Tabela V – Administração, dosagem e efeitos adversos dos antivíricos no combate ao influenza, adaptado de Falsey & Walsh, 2006

Antivírico	Espectro	Via de Administração	Dosagem (5 dias)	Efeitos adversos
Amantadina	Influenza A	Oral	100 mg/ dia	Ao nível do SNC e gastrointestinais
Rimantadina (não disponível em Portugal)	Influenza A	Oral	100 mg/ dia	Ao nível do SNC e gastrointestinais
Zanamivir (maiores de 12 anos)	Influenza A e B	Inalado	2 inalações/ 12 horas	Broncospasmo
Oseltamivir	Influenza A e B	Oral	75 mg/ 12 horas	Gastrointestinais, broncospasmo

Durante os meses frios, época de maior prevalência do influenza, o CDC recomenda o uso empírico de antivíricos conjuntamente com a terapia *standart*

antibacteriana numa confirmação ou suspeita de PAC pelo vírus influenza (Anthony E. Fiore *et al.*, 2011).

Alguns antibióticos têm atividade imunomoduladora e devem ser preferidos aqueles com ação bacteriostática ao invés da ação bactericida. Contudo este último dado pode não ser extrapolável para todos os grupos de pacientes e faixas etárias (Karlström *et al.*, 2010; Kneyber *et al.*, 2008).

Apesar de alguns avanços, estamos ainda longe de utilizar os fármacos imunomoduladores para casos de exacerbação na resposta imunitária – muitas das vezes, é esta mesma reação exacerbada, que conduz à infecção secundária bacteriana (Karlström *et al.*, 2010).

Para o caso de infecções mistas – casos estudados de infecções pneumónica por influenza e *Streptococcus pneumoniae* – está indicado o uso de penicilinas, antibióticos beta-lactâmicos e que por sua vez têm uma ação bactericida, com o objetivo de eliminar *in loco* o maior número de bactérias possível (Mandell *et al.*, 2007). Contudo este esquema terapêutico não revelou melhorias significativas na mortalidade, de 44%, especulando-se que os componentes celulares das bactérias lisadas possam desencadear uma resposta inflamatória notória, exacerbando os sintomas da infecção (McCullers, 2004). Estudos de Karlstrom e seus associados revelaram que fármacos com atividade bacteriostática, como os inibidores da síntese bacteriana clindamicina e azitromicina, permitem reduzir de forma acentuada inflamação face aos beta-lactâmicos, o que resulta num melhor prognóstico do doente e menor mortalidade, 18 e 8% respetivamente, apesar da menor *clearance* de bactérias – um aumento na sua dose permitiu uma maior eliminação mas também aumentou a toxicidade (Karlström *et al.*, 2010). Os corticosteroides conferem algumas melhorias clínicas aos pacientes mas induzem frequentemente um síndrome de insuficiência respiratória aguda (Nau e Eiffert, 2002).

A terapêutica com corticoides é ainda muito controversa, se por um lado permite aumentar a função respiratória e reduzir a inflamação, por outro reduz a função imunitária, aumentando a carga viral do agente no local de infecção e a sua persistência no trato respiratório (Buckingham *et al.*, 2002; Liu, Dhillon e Weill, 2010).

7. Conclusão

Os estudos mais recentes apontam para uma predominância cada vez maior dos vírus em doenças respiratórias, quer de uma forma direta como agentes etiológicos, quer de uma forma indireta como catalisadores de infecção por parte de outros agentes sejam eles bactérias, fungos ou outros vírus. É da maior importância aumentar a capacidade de detecção etiológica não só em relação à identificação das espécies mas também aos seus subgrupos e serotipos e, para tal, é necessário ampliar os métodos de diagnóstico para que possam ser mais precisos, sensíveis e céleres – assim poderemos definir com maior exatidão a etiologia das doenças respiratórias virais da comunidade em tempo clínico útil e melhor planear as estratégias terapêuticas adequadas a cada paciente e a toda a comunidade, neste último caso reduzindo a transmissão nosocomial do vírus. Permitir-nos-á fazer um uso mais racional de antibióticos – o seu uso indiscriminado, em doentes com quadro de infecção respiratório, nem sempre é o mais indicado, uma vez que a predominância das bactérias para estes casos se vai revelando cada vez menor, e com a agravante da perda de eficácia e ganho de resistências para estes fármacos.

É reconhecido que associações entre diferentes microrganismos pioram o prognóstico dos pacientes, agravando os seus sintomas e prolongando as intervenções terapêuticas. Contudo está ainda por esclarecer e confirmar os mecanismos de associação, quer de associação positiva quer negativa, entre os agentes patogénicos com os restantes microrganismos, sejam eles patogénicos ou comensais. Numa situação de infecção é necessário investigar também quais as possíveis relações sinérgicas que poderão existir entre os microrganismos presentes nas porções inferiores do trato respiratório com os presentes nas porções superiores e quais as suas consequências no decorrer do processo infeccioso e fisiopatológico das doenças.

A terapêutica específica para os agentes virais, nomeadamente os respiratórios, não foi alvo de grandes avanços nas últimas décadas, apesar do enorme empenho da comunidade científica. Os fármacos antivirais continuam a ser insuficientes e ineficazes para a maioria dos vírus e o tratamento assenta maioritariamente no controlo dos sintomas.

O desenvolvimento de novas vacinas tem sido o grande foco da investigação dados os enormes sucessos com outros agentes virais respiratórios e até aos dias de hoje. Tem revelado ser a forma mais eficaz de reduzir a mortalidade e morbilidade

destes microrganismos, reduzindo também o encargo económico que representam pela redução do absentismo laboral e pela menor necessidade do uso de fármacos terapêuticos ou profiláticos que por sua vez são muito dispendiosos. Especialmente para os grupos de risco conferem uma maior segurança e consequentemente uma melhor qualidade de vida.

Existe também a questão da pressão seletiva que a densidade populacional, os grandes acontecimentos ambientais, a poluição e mesmo as vacinas e fármacos possam ter sobre os vírus – cuja natureza replicativa muitas vezes já envolve o aparecimento de novas mutações - no aparecimento e prevalência de estirpes mais adaptadas à transmissão e ao organismo humano: o aumento considerável de agentes com potencial pandémico ou de espécies previamente consideradas zoonóticas e que adquirem capacidade de infetar o Homem poderão ser um indício dessa mesma pressão evolutiva. Os recentes surtos de influenza quer pelas estirpes suína H1N1 e aviária H7N9 puseram em questão a aptidão do ser humano em prever os possíveis agentes emergentes e, sobretudo, relativamente à capacidade de conferir uma resposta rápida e eficaz perante uma pandemia agravada.

Por enquanto o uso de objetos barreira como luvas e máscaras, aliadas a boas práticas de higiene pessoal e comunitária são a melhor forma de prevenir a propagação de vírus respiratórios, podendo fazer toda a diferença durante períodos epidémicos.

Nos países em desenvolvimento as infeções respiratórias inferiores revelam-se um problema dramático nas suas populações. Muitas vezes, o problema da mortalidade não está relacionado com a forma de prevenir ou tratar a doença mas em fazer chegar e aplicar esses recursos nos locais mais pobres e isolados. Como já foi descrito, o diagnóstico laboratorial é essencial no tratamento e prevenção das infeções e para a sua utilização global estes métodos necessitam de ser eficazes, rápidos e baratos e servir para fins de vigilância – as regiões do globo onde estas doenças são mais incidentes e mortais são também as regiões onde a deteção dos microrganismos é menor.

Desenvolver testes de deteção rápidos, eficazes e baratos (à semelhança dos existentes para o VRS), desenvolver novas terapêuticas antivirais, vacinas e fármacos profiláticos que necessitem de menores doses e com menores custos associados deverão ser considerados prioritários para doenças que continuam a ser responsáveis por milhões de mortes em todo o Mundo.

Bibliografia

- Allander, T. (2008). Human bocavirus. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 41(1), 29–33. doi:10.1016/j.jcv.2007.10.026
- Allander, T. *et al.*, (2007). Identification of a third human polyomavirus. *Journal of virology*, 81(8), 4130–6. doi:10.1128/JVI.00028-07
- Allander, T. *et al.*, (2007). Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 44(7), 904–10. doi:10.1086/512196
- Allander, T. *et al.*, (2005). Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(36), 12891–6. doi:10.1073/pnas.0504666102
- Alymova, I. V. *et al.*, (2005). The novel parainfluenza virus hemagglutinin-neuraminidase inhibitor BCX 2798 prevents lethal synergism between a paramyxovirus and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(1), 398–405. doi:10.1128/AAC.49.1.398-405.2005
- American Academy of Pediatrics. (2012). *Red Book: 2012 Report of the Committee on Infectious Diseases*. (Elk Grove Village, Ed.) (27th ed., p. 1058). Illinois: American Academy of Pediatrics.
- Angeles Marcos, M. *et al.*, (2006). The role of viruses in the aetiology of community-acquired pneumonia in adults. *Antiviral therapy*, 11(3), 351–9.
- Anon. (2003). *Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome -Worldwide* (pp. 81–83).
- Arden, K. E. e Mackay, I. M. (2010). Newly identified human rhinoviruses: molecular methods heat up the cold viruses. *Reviews in medical virology*, 20(3), 156–76. doi:10.1002/rmv.644
- Arnold, J. C. *et al.*, (2006). Human Bocavirus: Prevalence and Clinical Spectrum at a Children's Hospital, 92123(June), 283–288.
- Assiri, A. *et al.*, (2013). Hospital outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *The New England journal of medicine*, 369(5), 407–16. doi:10.1056/NEJMoa1306742

- Avadhanula, V. *et al.*, (2006). Respiratory viruses augment the adhesion of bacterial pathogens to respiratory epithelium in a viral species- and cell type-dependent manner. *Journal of virology*, 80(4), 1629–36. doi:10.1128/JVI.80.4.1629-1636.2006
- Bao, X. *et al.*, (2008). Human metapneumovirus glycoprotein G inhibits innate immune responses. *PLoS pathogens*, 4(5), e1000077. doi:10.1371/journal.ppat.1000077
- Barr, F. E. *et al.*, (2000). The pharmacologic mechanism by which inhaled epinephrine reduces airway obstruction in respiratory syncytial virus-associated bronchiolitis. *The Journal of pediatrics*, 136(5), 699–700.
- Behrendt, C. E. *et al.*, (1998). International variation in the management of infants hospitalized with respiratory syncytial virus. International RSV Study Group. *European journal of pediatrics*, 157(3), 215–20.
- Bellau-Pujol, S. *et al.*, (2005). Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *Journal of virological methods*, 126(1-2), 53–63. doi:10.1016/j.jviromet.2005.01.020
- Bentley, A. M., *et al.*, (1993). Expression of endothelial and leukocyte adhesion molecules intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, and vascular cell adhesion molecule-1 in the bronchial mucosa in steady-state and allergen-induced asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 92(6), 857–68.
- Bizzintino, J., Lee, W.-M., Laing, I. A., Vang, F., Pappas, T., Zhang, G., ... Le Souëf, P. N. (2011). Association between human rhinovirus C and severity of acute asthma in children. *The European respiratory journal*, 37(5), 1037–42. doi:10.1183/09031936.00092410
- Bjornson, C. L. e Johnson, D. W. (2008). Croup. *Lancet*, 371(9609), 329–39. doi:10.1016/S0140-6736(08)60170-1
- Boeckh, M. (2009). The Challenge of Respiratory Virus Infections in Hematopoietic Cell Transplant Recipients. *National institute of Health*, 143(4), 455–467. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07295
- Bohé, L. *et al.*, (2004). [Indications of conventional chest physiotherapy in acute bronchiolitis]. *Medicina*, 64(3), 198–200.
- Boivin, G. *et al.*, (2003). Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerging infectious diseases*, 9(6), 634–40. doi:10.3201/eid0906.030017
- Bordigoni, P. *et al.*, (2001). Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical infectious diseases: an*

official publication of the Infectious Diseases Society of America, 32(9), 1290–7. doi:10.1086/319984

Brittain-Long, R. *et al.*, (2011). Access to a polymerase chain reaction assay method targeting 13 respiratory viruses can reduce antibiotics: a randomised, controlled trial. *BMC medicine*, 9(1), 44. doi:10.1186/1741-7015-9-44

Brunstein, J. D. *et al.*, (2008). Evidence from multiplex molecular assays for complex multipathogen interactions in acute respiratory infections. *Journal of clinical microbiology*, 46(1), 97–102. doi:10.1128/JCM.01117-07

Buckingham, S. C. *et al.*, (2002). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of dexamethasone in severe respiratory syncytial virus (RSV) infection: effects on RSV quantity and clinical outcome. *The Journal of infectious diseases*, 185(9), 1222–8. doi:10.1086/340024

Busse, W. W. *et al.*, (2010). Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations. *Lancet*, 376(9743), 826–34. doi:10.1016/S0140-6736(10)61380-3

Caliendo, A. M. (2011). Multiplex PCR and emerging technologies for the detection of respiratory pathogens. *Clinical infectious diseases*, 52 Suppl 4(Suppl 4), S326–30. doi:10.1093/cid/cir047

Capelozzi, V. L. *et al.*, (2010). Pathological and ultrastructural analysis of surgical lung biopsies in patients with swine-origin influenza type A/H1N1 and acute respiratory failure. *Clinics*, 65(12), 1229–1237. doi:10.1590/S1807-59322010001200003

Carballal, G. *et al.*, (2002). Adenovirus type 7 associated with severe and fatal acute lower respiratory infections in Argentine children. *BMC pediatrics*, 2, 6.

Carbonell-Estrany, X. *et al.*, (2010). Motavizumab for prophylaxis of respiratory syncytial virus in high-risk children: a noninferiority trial. *Pediatrics*, 125(1), e35–51. doi:10.1542/peds.2008-1036

Carman, W. F. e Mahony, J. B. (2007). The pathogens. *Journal of clinical virology*, 40 Suppl 1, S5–S10. doi:10.1016/S1386-6532(07)70003-3

Carvalho, W. B. *et al.*, (2007). Bronquiolite aguda, uma revisão atualizada. *Rev Assoc Med Bras*, 53(2), 182–188.

Centers for Disease Control and Prevention. (2013). *Coronavirus: Middle East respiratory syndrome* (p. 1).

Centre for Disease Control and Prevention (CDC). (2012). Novel Human Adenovirus Strain, Bangladesh - Vol. 18 No. 5 - May 2012 - - CDC. *Emerging Infectious Disease Journal*, 18(5).

- Centre for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). *Avian Influenza A H7N9* (p. 1). Retrieved from <http://www.cdc.gov/flu/avianflu/h7n9-virus.htm>
- Cevey-Macherel, M. *et al.*, (2009). Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized children based on WHO clinical guidelines. *European journal of pediatrics*, 168(12), 1429–36. doi:10.1007/s00431-009-0943-y
- Chakrabarti, S. *et al.*, (2001). Infections post transplant Pre-emptive oral ribavirin therapy of paramyxovirus infections after haematopoietic stem cell transplantation : a pilot study, (July), 759–763.
- Chen, H.-L. *et al.*, (2004). Respiratory adenoviral infections in children: a study of hospitalized cases in southern Taiwan in 2001--2002. *Journal of tropical pediatrics*, 50(5), 279–84.
- Cheng, W. *et al.*, (2008). Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis: a case-control study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 47(2), 161–7. doi:10.1086/589244
- Chiu, C. Y. *et al.*, (2007). Diagnosis of a critical respiratory illness caused by human metapneumovirus by use of a pan-virus microarray. *Journal of clinical microbiology*, 45(7), 2340–3. doi:10.1128/JCM.00364-07
- Chiu, S. S. *et al.*, (2001). Influenza A infection is an important cause of febrile seizures. *Pediatrics*, 108(4), E63. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11581471>
- Chiu, S. S. *et al.*, (2005). Human coronavirus NL63 infection and other coronavirus infections in children hospitalized with acute respiratory disease in Hong Kong, China. *Clinical infectious diseases*, 40(12), 1721–9. doi:10.1086/430301
- Choi, E. H. *et al.*, (2006). The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(5), 585–92. doi:10.1086/506350
- Chu, C. M. *et al.*, (2004). Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax*, 59(3), 252–256. doi:10.1136/thorax.2003.012658
- Coiras, M. T. *et al.*, (2004). Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays. *Journal of medical virology*, 72(3), 484–95. doi:10.1002/jmv.20008

- Couriel, J. (2002). Assessment of the child with recurrent chest infections. *British Medical Bulletin*, 61(1), 115–132. doi:10.1093/bmb/61.1.115
- Cox, R. G. e Williams, J. V. (2013). Breaking in: human metapneumovirus fusion and entry. *Viruses*, 5(1), 192–210. doi:10.3390/v5010192
- Creer, D. D. *et al.*, (2006). Aetiological role of viral and bacterial infections in acute adult lower respiratory tract infection (LRTI) in primary care. *Thorax*, 61(1), 75–9. doi:10.1136/thx.2004.027441
- Crouch, R. (2000). Prevention and Treatment of Influenza. *New England Journal of Medicine*, 343, 1778–87. doi:10.1056/NEJM200012143432407
- Darniot, M. *et al.*, (2009). Age-associated aggravation of clinical disease after primary metapneumovirus infection of BALB/c mice. *Journal of virology*, 83(7), 3323–32. doi:10.1128/JVI.02198-08
- Dawood, F. S. *et al.*, (2009). Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *The New England journal of medicine*, 360(25), 2605–15. doi:10.1056/NEJMoa0903810
- Deiman, B. *et al.*, (2007). Rapid and highly sensitive qualitative real-time assay for detection of respiratory syncytial virus A and B using NASBA and molecular beacon technology. *Journal of virological methods*.
- Derish, M. *et al.*, (1998). Aerosolized albuterol improves airway reactivity in infants with acute respiratory failure from respiratory syncytial virus. *Pediatric pulmonology*, 26(1), 12–20.
- Direção Geral da Saúde. (2012). *Diagnóstico e Tratamento da Pneumonia Adquirida na Comunidade em Idade Pediátrica* (pp. 1–16).
- Don, M. *et al.*, (2009). Differentiation of bacterial and viral community-acquired pneumonia in children. *Pediatrics International*, 51(1), 91–6. doi:10.1111/j.1442-200X.2008.02678.x
- Dowell, S. F. *et al.*, (1996). Respiratory syncytial virus is an important cause of community-acquired lower respiratory infection among hospitalized adults. *The Journal of infectious diseases*, 174(3), 456–62.
- Dragun, D. *et al.*, (2013). Non-HLA antibodies in solid organ transplantation: recent concepts and clinical relevance. *Current opinion in organ transplantation*, 18(4), 430–5. doi:10.1097/MOT.0b013e3283636e55
- Duan, L. *et al.*, (2008). The development and genetic diversity of H5N1 influenza virus in China, 1996-2006. *Virology*, 380(2), 243–54. doi:10.1016/j.virol.2008.07.038

- Edlmayr, J. *et al.*, (2011). Antibodies induced with recombinant VP1 from human rhinovirus exhibit cross-neutralisation. *The European respiratory journal*, 37(1), 44–52. doi:10.1183/09031936.00149109
- Esper, F. *et al.*, (2004). A 1-year experience with human metapneumovirus in children aged <5 years. *The Journal of infectious diseases*, 189(8), 1388–96. doi:10.1086/382482
- Esposito, S. *et al.*, (2013). Impact of rhinovirus nasopharyngeal viral load and viremia on severity of respiratory infections in children. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. doi:10.1007/s10096-013-1926-5
- Etherington, C. *et al.*, (2013). The role of respiratory viruses in adult patients with cystic fibrosis receiving intravenous antibiotics for a pulmonary exacerbation. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 4–10. doi:10.1016/j.jcf.2013.06.004
- Everard, M. L. (2006). The relationship between respiratory syncytial virus infections and the development of wheezing and asthma in children. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 6(1), 56–61. doi:10.1097/01.all.0000200506.62048.06
- Falsey, A. R.. e Walsh, E. E. (2000). Respiratory syncytial virus infection adults. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(3), 371–84.
- Falsey, A. R.. e Walsh, E. E. (2006). Viral pneumonia in older adults. *Clinical Infectious Diseases*, 42(4), 518–24. doi:10.1086/499955
- File Jr, T. (2003). Community-acquired pneumonia. *The Lancet*, 362, 1991–2001.
- Fiore, A. E. *et al.*, (1998). Outbreak of pneumonia in a long-term care facility: antecedent human parainfluenza virus 1 infection may predispose to bacterial pneumonia. *Journal of the American Geriatrics Society*, 46(9), 1112–7.
- Fiore, A. E. *et al.*, (2011). *Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Antiviral Agents for the Treatment and Chemoprophylaxis of Influenza* (pp. 60(RR01);1–24).
- Fogel, J. M. *et al.*, (1982). Racemic epinephrine in the treatment of croup: nebulization alone versus nebulization with intermittent positive pressure breathing. *The Journal of pediatrics*, 101(6), 1028–31.
- Fong, C. K. *et al.*, (2000). Evaluation of R-Mix FreshCells in shell vials for detection of respiratory viruses. *Journal of clinical microbiology*, 38(12), 4660–2.
- Food and Drug Administration. (2013). A Phase 2 Study of BTA798 in Asthmatic Adults With Symptomatic Human Rhinovirus Infection (RHINO). *Clinical Trials - Governo dos EUA*.

- Forster, J. *et al.*, (2004). Prospective population-based study of viral lower respiratory tract infections in children under 3 years of age. *European journal of pediatrics*, 163(12), 709–16. doi:10.1007/s00431-004-1523-9
- Foulongne, V. *et al.*, (2006). Human bocavirus in French children. *Emerging infectious diseases*, 12(8), 1251–3. doi:10.3201/eid1208.060213
- Fry, A. M. *et al.*, (2007). Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *The Journal of infectious diseases*, 195(7), 1038–45. doi:10.1086/512163
- Gadomski, A. M. e Brower, M. (2010). Bronchodilators for bronchiolitis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (12), CD001266. doi:10.1002/14651858.CD001266.pub2
- Galeno, O. *et al.*, (2013). Atualização em pneumonia comunitária viral. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, 59(1), 78–84.
- Ganz, T. (2003). Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature reviews. Immunology*, 3(9), 710–20. doi:10.1038/nri1180
- García-Rodríguez, J. A. *et al.*, (2002). Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 50 Suppl S, 59–73.
- Gillim-Ross, L. *et al.*, (2004). Discovery of novel human and animal cells infected by the severe acute respiratory syndrome coronavirus by replication-specific multiplex reverse transcription-PCR. *Journal of clinical microbiology*, 42(7), 3196–206. doi:10.1128/JCM.42.7.3196-3206.2004
- Ginocchio, C. C. (2007). Detection of respiratory viruses using non-molecular based methods. *Journal of clinical virology*, 40 Suppl 1, S11–4. doi:10.1016/S1386-6532(07)70004-5
- Glezen, P. e Denny, F. W. (1973). Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *The New England journal of medicine*, 288(10), 498–505. doi:10.1056/NEJM197303082881005
- Glezen, W. P. *et al.*, (1984). Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *The Journal of infectious diseases*, 150(6), 851–7.
- Goetghebuer, T., *et al.*, (2004). Familial susceptibility to severe respiratory infection in early life. *Pediatric pulmonology*, 38(4), 321–8. doi:10.1002/ppul.20069

- Goulding, J. *et al.*, (2011). Lowering the threshold of lung innate immune cell activation alters susceptibility to secondary bacterial superinfection. *The Journal of infectious diseases*, 204(7), 1086–94. doi:10.1093/infdis/jir467
- Govaert, T. M. *et al.*, (1994). The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals. A randomized double-blind placebo-controlled trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 272(21), 1661–5.
- Govorkova, E. A. e McCullers, J. A. (2013). Therapeutics against influenza. *Current topics in microbiology and immunology*, 370, 273–300. doi:10.1007/82_2011_198
- Grayson, M. H. *et al.*, (2007). Induction of high-affinity IgE receptor on lung dendritic cells during viral infection leads to mucous cell metaplasia. *The Journal of experimental medicine*, 204(11), 2759–69. doi:10.1084/jem.20070360
- Greenes, D. S. e Harper, M. B. (1999). Low risk of bacteremia in febrile children with recognizable viral syndromes. *The Pediatric infectious disease journal*, 18(3), 258–61.
- Gross, P. A. *et al.*, (1995). The efficacy of influenza vaccine in elderly persons. A meta-analysis and review of the literature. *Annals of internal medicine*, 123(7), 518–27.
- Gu, J. e Korteweg, C. (2007). Pathology and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome. *The American Journal of Pathology*, 170(4), 1136–1147. doi:10.2353/ajpath.2007.061088
- Guan, Y. *et al.*, (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5643), 276–8. doi:10.1126/science.1087139
- Halburtn-rush, L. L. *et al.*, (2004). Human Metapneumovirus and Lower Respiratory Tract Disease in Otherwise Healthy Infants and Children. *The New England journal of medicine*, 350(5), 443–450.
- Hall, C. B. (2001). Respiratory Syncytial Virus and Parainfluenza Virus. *New England Journal of Medicine*, 344(25), 1917–1928.
- Hall, W. *et al.*, (2011). Clinical Manifestations And Impact Of Human Metapneumovirus In Healthy Adults: A Retrospective Analysis Of 28 Patients Over 2 Years. *American journal of respiratory care medicine*, 183, 4927. doi:doi:10.3390/v5010087
- Hament, J.-M. *et al.*, (2005). Direct binding of respiratory syncytial virus to pneumococci: a phenomenon that enhances both pneumococcal adherence to human epithelial cells and pneumococcal invasiveness in a murine model. *Pediatric research*, 58(6), 1198–203. doi:10.1203/01.pdr.0000188699.55279.1b

- Hammond, S. P. *et al.*, (2012). Respiratory virus detection in immunocompromised patients with FilmArray respiratory panel compared to conventional methods. *Journal of clinical microbiology*, 50(10), 3216–21. doi:10.1128/JCM.00538-12
- Harris, J.-A. S. *et al.*, (2007). Health care epidemiology perspective on the October 2006 recommendations of the Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics*, 120(4), 890–2. doi:10.1542/peds.2007-1305
- Hartling, L. *et al.*, (2003). A meta-analysis of randomized controlled trials evaluating the efficacy of epinephrine for the treatment of acute viral bronchiolitis. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 157(10), 957–64. doi:10.1001/archpedi.157.10.957
- Hayden, F. G. (2004). Rhinovirus and the lower respiratory tract. *Reviews in medical virology*, 14(1), 17–31. doi:10.1002/rmv.406
- Hayden, F. G. *et al.*, (1999). Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *The New England journal of medicine*, 341(18), 1336–43. doi:10.1056/NEJM199910283411802
- Heikkinen, T. e Chonmaitree, T. (2003). Importance of Respiratory Viruses in Acute Otitis Media, 16(2), 230–241. doi:10.1128/CMR.16.2.230
- Heikkinen, T., e Järvinen, A. (2003). The common cold. *Lancet*, 361(9351), 51–9. doi:10.1016/S0140-6736(03)12162-9
- Henderson, F. W. *et al.*, (1979). Respiratory-syncytial-virus infections, reinfections and immunity. A prospective, longitudinal study in young children. *The New England journal of medicine*, 300(10), 530–4. doi:10.1056/NEJM197903083001004
- Herfst, S. e Fouchier, R. A. M. (2008). Vaccination approaches to combat human metapneumovirus lower respiratory tract infections. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 41(1), 49–52. doi:10.1016/j.jcv.2007.10.022
- Heymann, P. W. e Kennedy, J. L. (2012). Rhinovirus-induced asthma exacerbations during childhood: the importance of understanding the atopic status of the host. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 130(6), 1315–6. doi:10.1016/j.jaci.2012.10.024
- Hilleman, M. R. (1957). Epidemiology of adenovirus respiratory infections in military recruit populations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 67(8), 262–272. doi:10.1111/j.1749-6632.1957.tb46049.x
- Hirsch, H. H. *et al.*, (2013). Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis and treatment of human respiratory syncytial virus,

parainfluenza virus, metapneumovirus, rhinovirus, and coronavirus. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56(2), 258–66. doi:10.1093/cid/cis844

Hoa, M. *et al.*, (2008). Correlating the clinical course of recurrent croup with endoscopic findings: a retrospective observational study. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 117(6), 464–9.

Holman, R. C. *et al.*, (2003). Risk factors for bronchiolitis-associated deaths among infants in the United States. *The Pediatric infectious disease journal*, 22(6), 483–90. doi:10.1097/01.inf.0000069765.43405.3b

Hong, J. Y. *et al.*, (2001). Lower respiratory tract infections due to adenovirus in hospitalized Korean children: epidemiology, clinical features, and prognosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(10), 1423–9. doi:10.1086/320146

Huck, B. *et al.*, (2006). Human metapneumovirus infection in a hematopoietic stem cell transplant recipient with relapsed multiple myeloma and rapidly progressing lung cancer. *Journal of clinical microbiology*, 44(6), 2300–3. doi:10.1128/JCM.00152-06

Hussell, T. *et al.*, (2012). Respiratory viral infections : knowledge based therapeutics. *Current Opinion in Immunology*, 24, 438–443.

Ichinohe, T. *et al.*, (2011). Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(13), 5354–5359. doi:10.1073/pnas.1019378108/-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1019378108

Ison, M. G. (2007). Respiratory viral infections in transplant recipients. *Antiviral therapy*, 12(4 Pt B), 627–38. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17944270>

Jackson, D. J. *et al.*, (2012). Evidence for a causal relationship between allergic sensitization and rhinovirus wheezing in early life. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 185(3), 281–5. doi:10.1164/rccm.201104-0660OC

Jackson, D. J. *et al.*, (2008). Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 178(7), 667–72. doi:10.1164/rccm.200802-309OC

Jacques, J. *et al.*, (2008). Human Bocavirus quantitative DNA detection in French children hospitalized for acute bronchiolitis. *Journal of clinical virology : the official*

publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 43(2), 142–7. doi:10.1016/j.jcv.2008.05.010

Jain, S. *et al.*, (2009). Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *The New England journal of medicine*, 361(20), 1935–44. doi:10.1056/NEJMoa0906695

Jartti, T. *et al.*, (2008). Identification of respiratory viruses in asymptomatic subjects: asymptomatic respiratory viral infections. *The Pediatric infectious disease journal*, 27(12), 1103–7. doi:10.1097/INF.0b013e31817e695d

Jartti, T. *et al.*, (2004). Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children. *Emerging infectious diseases*, 10(6), 1095–101. doi:10.3201/eid1006.030629

Jean, C. *et al.*, (2010). Invasive group A streptococcal infection concurrent with 2009 H1N1 influenza. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50(10), e59–62. doi:10.1086/652291

Jennings, L. C. *et al.*, (2008). Incidence and characteristics of viral community-acquired pneumonia in adults. *Thorax*, 63(1), 42–8. doi:10.1136/thx.2006.075077

Jin, Y. *et al.*, (2013). Prevalence of adenovirus in children with acute respiratory tract infection in Lanzhou, China. *Virology journal*, 10(1), 271. doi:10.1186/1743-422X-10-271

Johansson, N. *et al.*, (2010). Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods. *Clinical Infectious Diseases*, 50(2), 202–9. doi:10.1086/648678

Johnston, N. W. *et al.*, (2005). The September epidemic of asthma exacerbations in children: a search for etiology. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 115(1), 132–8. doi:10.1016/j.jaci.2004.09.025

Johnston, S. L. *et al.*, (1995). Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ (Clinical research ed.)*, 310(6989), 1225–9.

Johnstone, J. *et al.*, (2008). Viral infection in adults hospitalized with community-acquired pneumonia: prevalence, pathogens, and presentation. *Chest*, 134(6), 1141–8. doi:10.1378/chest.08-0888

Jones, M. S. *et al.*, (2005). New DNA Viruses Identified in Patients with Acute Viral Infection Syndrome, 79(13), 8230–8236. doi:10.1128/JVI.79.13.8230

Kahn, J. S. *et al.*, (2008). Seroepidemiology of human bocavirus defined using recombinant virus-like particles. *The Journal of infectious diseases*, 198(1), 41–50. doi:10.1086/588674

Kaiser, L. *et al.*, (2006). Chronic rhinoviral infection in lung transplant recipients. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 174(12), 1392–9. doi:10.1164/rccm.200604-489OC

Kaiser, L. *et al.*, (2005). Human coronavirus NL63 associated with lower respiratory tract symptoms in early life. *The Pediatric infectious disease journal*, 24(11), 1015–7.

Kallen, A. J. *et al.*, (2009). Staphylococcus aureus community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Annals of emergency medicine*, 53(3), 358–65. doi:10.1016/j.annemergmed.2008.04.027

Karlström, Å. *et al.*, (2010). Treatment with protein synthesis inhibitors improves outcomes from secondary bacterial pneumonia following influenza. *Journal of Infectious Diseases*, 199(3), 311–319. doi:10.1086/596051.Treatment

Katz, J. M. *et al.*, (2011). Serologic assays for influenza surveillance, diagnosis and vaccine evaluation. *Expert review of anti-infective therapy*, 9(6), 669–83. doi:10.1586/eri.11.51

Kesebir, D. *et al.*, (2006). Human Bocavirus Infection in Young Children in the United States : Molecular Epidemiological Profil and Clinical Characteristics of a Newly Emerging Respiratory Virus, 8064.

Khanna, N. *et al.*, (2008). Respiratory syncytial virus infection in patients with hematological diseases: single-center study and review of the literature. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(3), 402–12. doi:10.1086/525263

Kim, Y.-J. *et al.*, (2007). Community respiratory virus infections in immunocompromised patients: hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients, and individuals with human immunodeficiency virus infection. *Seminars in respiratory and critical care medicine*, 28(2), 222–42. doi:10.1055/s-2007-976494

Kim, Y.-J. *et al.*, (2003). Genome type analysis of adenovirus types 3 and 7 isolated during successive outbreaks of lower respiratory tract infections in children. *Journal of clinical microbiology*, 41(10), 4594–9.

Kneyber, M. C. J. *et al.*, (2008). Azithromycin does not improve disease course in hospitalized infants with respiratory syncytial virus (RSV) lower respiratory tract

disease: a randomized equivalence trial. *Pediatric pulmonology*, 43(2), 142–9. doi:10.1002/ppul.20748

Knipe, D. M. e Howley, P. (2001). *Fields virology - Adenovirus, 4th ed. Vol 2.* (pp. 2301–21). Lippincott Williams & Wilkins. Retrieved from <http://www.amazon.com/Fields-Virology-Knipe-Volume-Set/dp/1451105630>

Knott, A. M. *et al.*, (1994). Parainfluenza viral infections in pediatric outpatients: seasonal patterns and clinical characteristics. *The Pediatric infectious disease journal*, 13(4), 269–73.

Knutson, D. e Aring, A. (2004). Viral croup. *American family physician*, 69(3), 535–40. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523420>

Konig, B. *et al.*, (2004). Prospective Study of Human Metapneumovirus Infection in Children Less Than 3 Years of Age, 42(10), 4632–4635. doi:10.1128/JCM.42.10.4632

Kurz, T. e Ober, C. (2004). The role of environmental tobacco smoke in genetic susceptibility to asthma. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 4(5), 335–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15349030>

Kusel, M. M. H. *et al.*, (2007). Early-life respiratory viral infections, atopic sensitization, and risk of subsequent development of persistent asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 119(5), 1105–10. doi:10.1016/j.jaci.2006.12.669

Kuss, S. K. *et al.*, (2011). Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. *Science (New York, N.Y.)*, 334(6053), 249–52. doi:10.1126/science.1211057

Kuypers, J. *et al.*, (2007). Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes. *Pediatrics*, 119(1), e70–6. doi:10.1542/peds.2006-1406

Kuypers, J. *et al.*, (2006). Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *Journal of clinical microbiology*, 44(7), 2382–8. doi:10.1128/JCM.00216-06

La Scola, B. *et al.*, (2005). Mimivirus in pneumonia patients. *Emerging infectious diseases*, 11(3), 449–52. doi:10.3201/eid1103.040538

Lau, S. K. P. *et al.*, (2010). Human rhinovirus C: a newly discovered human rhinovirus species. *Emerging health threats journal*, 3, e2. doi:10.3134/ehthj.10.002

Lauinger, I. L. *et al.*, (2013). Patient characteristics and severity of human rhinovirus infections in children. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 58(1), 216–20. doi:10.1016/j.jcv.2013.06.042

- Le Nouën, C. *et al.*, (2009). Infection and maturation of monocyte-derived human dendritic cells by human respiratory syncytial virus, human metapneumovirus, and human parainfluenza virus type 3. *Virology*, 385(1), 169–82. doi:10.1016/j.virol.2008.11.043
- Lee, W.-M. *et al.*, (2012). Human rhinovirus species and season of infection determine illness severity. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 186(9), 886–91. doi:10.1164/rccm.201202-0330OC
- Leland, D. S. e Ginocchio, C. C. (2007). Role of cell culture for virus detection in the age of technology. *Clinical microbiology reviews*, 20(1), 49–78. doi:10.1128/CMR.00002-06
- Lemanske, R. F. *et al.*, (1989). Rhinovirus upper respiratory infection increases airway hyperreactivity and late asthmatic reactions. *The Journal of clinical investigation*, 83(1), 1–10. doi:10.1172/JCI113843
- Leroy, O. *et al.*, (1997). Community-acquired aspiration pneumonia in intensive care units. Epidemiological and prognosis data. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 156(6), 1922–9. doi:10.1164/ajrccm.156.6.9702069
- Leung, G. M. *et al.*, (2004). The epidemiology of severe acute respiratory syndrome in the 2003 Hong Kong epidemic: an analysis of all 1755 patients. *Annals of internal medicine*, 141(9), 662–73.
- Levandowski, R. A. *et al.*, (1985). Modifications of lung clearance mechanisms by acute influenza A infection. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 106(4), 428–32.
- Lewis, V. A. *et al.*, (1996). Respiratory disease due to parainfluenza virus in adult bone marrow transplant recipients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 23(5), 1033–7.
- Li, Q. *et al.*, (2013). Preliminary Report: Epidemiology of the Avian Influenza A (H7N9) Outbreak in China. *The New England journal of medicine*. doi:10.1056/NEJMoa1304617
- Liu, V. *et al.*, (2010). A multi-drug regimen for respiratory syncytial virus and parainfluenza virus infections in adult lung and heart-lung transplant recipients. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society*, 12(1), 38–44. doi:10.1111/j.1399-3062.2009.00453.x

- Loosli, C. G. *et al.*, (1975). The destruction of type 2 pneumocytes by airborne influenza PR8-A virus; its effect on surfactant and lecithin content of the pneumonic lesions of mice. *Chest*, 67(2 Suppl), 7S–14S.
- Louie, J. K. *et al.*, (2008). Severe pneumonia due to adenovirus serotype 14: a new respiratory threat? *Clinical Infectious Diseases*, 46(3), 421–5. doi:10.1086/525261
- Louria, D. B. *et al.*, (1959). Studies on influenza in the pandemic of 1957-1958. II. Pulmonary complications of influenza. *The Journal of clinical investigation*, 38(1 Part 2), 213–65. doi:10.1172/JCI103791
- Lu, X. *et al.*, (2006). Real-time PCR assays for detection of bocavirus in human specimens. *Journal of clinical microbiology*, 44(9), 3231–5. doi:10.1128/JCM.00889-06
- Lüsebrink, J. *et al.*, (2010). High seroprevalence of neutralizing capacity against human metapneumovirus in all age groups studied in Bonn, Germany. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 17(3), 481–4. doi:10.1128/CVI.00398-09
- Lukashev, A. N. (2010). Recombination among picornaviruses. *Reviews in medical virology*, 20(5), 327–37. doi:10.1002/rmv.660
- Luria, J. W. *et al.*, (2001). Effectiveness of oral or nebulized dexamethasone for children with mild croup. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 155(12), 1340–5.
- Lysholm, F. *et al.*, (2012). Characterization of the viral microbiome in patients with severe lower respiratory tract infections, using metagenomic sequencing. *PloS one*, 7(2), e30875. doi:10.1371/journal.pone.0030875
- Mackay, I. M. (2008). Human rhinoviruses: the cold wars resume. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 42(4), 297–320. doi:10.1016/j.jcv.2008.04.002
- Mackie, P. L. *et al.*, (2001). Evaluation of an acute point-of-care system screening for respiratory syncytial virus infection. *The Journal of hospital infection*, 48(1), 66–71. doi:10.1053/jhin.2001.0942.
- Mahony, J. B. (2008). Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clinical microbiology reviews*, 21(4), 716–47. doi:10.1128/CMR.00037-07.
- Mahony, J. *et al.*, (2007). Development of a respiratory virus panel test for detection of twenty human respiratory viruses by use of multiplex PCR and a fluid microbead-based assay. *Journal of clinical microbiology*, 45(9), 2965–70. doi:10.1128/JCM.02436-06.

- Mak, R. K. Y. *et al.*, (2011). Clinical spectrum of human rhinovirus infections in hospitalized Hong Kong children. *The Pediatric infectious disease journal*, 30(9), 749–53. doi:10.1097/INF.0b013e31821b8c71.
- Mäkelä, M. J. *et al.*, (1998). Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *Journal of clinical microbiology*, 36(2), 539–42.
- Malmström, K. *et al.*, (2006). Human rhinovirus in bronchial epithelium of infants with recurrent respiratory symptoms. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 118(3), 591–6. doi:10.1016/j.jaci.2006.04.032
- Mandell, G. L. *et al.*, (2009). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* (pp. 1990–8). Churchill Livingstone.
- Mandell, L. A. *et al.*, (2007). Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 44 Suppl 2(Suppl 2), S27–72. doi:10.1086/511159
- Manning, A. *et al.*, (2006). Epidemiological Profil and Clinical Associations of Human Bocavirus and Other Human Parvoviruses, 194, 1283–1290.
- Marcos, M. A. *et al.*, (2006). The role of viruses in the aetiology of community-acquired pneumonia in adults. *Antiviral therapy*, 11, 351–9.
- Marra, M. A. *et al.*, (2003). The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science (New York, N.Y.)*, 300(5624), 1399–404. doi:10.1126/science.1085953
- Martin, E. T. *et al.*, (2008). Clinical disease and viral load in children infected with respiratory syncytial virus or human metapneumovirus. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 62(4), 382–8. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2008.08.002
- Marx, A. *et al.*, (1999). Parainfluenza virus infection among adults hospitalized for lower respiratory tract infection. *Clinical infectious diseases*, 29(1), 134–40. doi:10.1086/520142
- Marx, A. *et al.*, (1997). Pediatric hospitalizations for croup (laryngotracheobronchitis): biennial increases associated with human parainfluenza virus 1 epidemics. *The Journal of infectious diseases*, 176(6), 1423–7.
- Matsushima, Y. *et al.*, (2009). Genomic analyses of recombinant adenovirus type 11a in China. *Journal of clinical microbiology*, 47(10), 3082–90. doi:10.1128/JCM.00282-09
- McCarthy, C. A. e Hall, C. B. (2003). Respiratory Syncytial Virus: Concerns and Control. *Pediatrics in Review*, 24(9), 301–309. doi:10.1542/pir.24-9-301

- McCracken, G. H. (2000). Diagnosis and management of pneumonia in children. *The Pediatric infectious disease journal*, 19(9), 924–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11001128>
- McCullers, J. A. (2004). Effect of antiviral treatment on the outcome of secondary bacterial pneumonia after influenza. *The Journal of infectious diseases*, 190(3), 519–26. doi:10.1086/421525
- McCullers, J. A. (2006). Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clinical microbiology reviews*, 19(3), 571–82. doi:10.1128/CMR.00058-05
- McCullers, J. A. e Bartmess, K. C. (2003). Role of neuraminidase in lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *The Journal of infectious diseases*, 187(6), 1000–9. doi:10.1086/368163
- McCullers, J. A. e Rehg, J. E. (2002). Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *The Journal of infectious diseases*, 186(3), 341–50. doi:10.1086/341462
- McPhee, S. J. *et al.*, (2011). *CURRENT Medical Diagnosis and Treatment 2012, Fifty-First Edition* (pp. 265–8). Retrieved from http://books.google.pt/books/about/CURRENT_Medical_Diagnosis_and_Treatment.html?id=H-s0BeSc65wC&pgis=1
- Meerhoff, T. J. *et al.*, (2006). Surveillance recommendations based on an exploratory analysis of respiratory syncytial virus reports derived from the European Influenza Surveillance System. *BMC infectious diseases*, 6(1), 128. doi:10.1186/1471-2334-6-128
- Michelow, I. C. *et al.*, (2004). Epidemiology and Clinical Characteristics of Community-Acquired Pneumonia in Hospitalized Children. *PEDIATRICS*, 113(4), 701–707. doi:10.1542/peds.113.4.701
- Michelow, I. *et al.*, (2004). Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics*, 113(4), 701–707.
- Milano, F. *et al.*, (2010). Human rhinovirus and coronavirus detection among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Blood*, 115(10), 2088–94. doi:10.1182/blood-2009-09-244152
- Miller, E. K. *et al.*, (2009). A novel group of rhinoviruses is associated with asthma hospitalizations. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 123(1), 98–104.e1. doi:10.1016/j.jaci.2008.10.007

- Miller, E. K. *et al.*, (2007). Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. *The Journal of infectious diseases*, 195(6), 773–81. doi:10.1086/511821
- Miller, E. K. *et al.*, (2011). Host and viral factors associated with severity of human rhinovirus-associated infant respiratory tract illness. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(4), 883–891.
- Miyairi, I. e DeVincenzo, J. P. (2008). Human genetic factors and respiratory syncytial virus disease severity. *Clinical microbiology reviews*, 21(4), 686–703. doi:10.1128/CMR.00017-08
- Moura, P. O. *et al.*, (2007). Molecular epidemiology of human adenovirus isolated from children hospitalized with acute respiratory infection in São Paulo, Brazil. *Journal of medical virology*, 79(2), 174–81. doi:10.1002/jmv.20778
- Murdoch, D. R. *et al.*, (2009). Breathing new life into pneumonia diagnostics. *Journal of clinical microbiology*, 47(11), 3405–8. doi:10.1128/JCM.01685-09
- Nair, H. *et al.*, (2010). Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 375(9725), 1545–55. doi:10.1016/S0140-6736(10)60206-1
- Nascimento, M. S. *et al.*, (2010). High rate of viral identification and coinfections in infants with acute bronchiolitis. *Clinics*, 65(11), 1133–1137. doi:10.1590/S1807-59322010001100014
- Nasr, S. Z. *et al.*, (2001). Efficacy of recombinant human deoxyribonuclease I in the hospital management of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Chest*, 120(1), 203–8.
- Nau, R. e Eiffert, H. (2002). Modulation of release of proinflammatory bacterial compounds by antibacterials: potential impact on course of inflammation and outcome in sepsis and meningitis. *Clinical microbiology reviews*, 15(1), 95–110.
- Nichol, K. L. *et al.*, (2003). Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *The New England journal of medicine*, 348(14), 1322–32. doi:10.1056/NEJMoa025028
- Nichol, K. P. e Cherry, J. D. (1967). Bacterial-viral interrelations in respiratory infections of children. *The New England journal of medicine*, 277(13), 667–72. doi:10.1056/NEJM196709282771301
- Nicholson, K. G. *et al.*, (1993). Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ (Clinical research ed.)*, 307(6910), 982–6.
- Nohynek, H. *et al.*, (1991). The causes of hospital-treated acute lower respiratory tract infection in children. *American journal of diseases of children (1960)*, 145(6), 618–22.

- Nolte, F. S. (2008). Molecular diagnostics for detection of bacterial and viral pathogens in community-acquired pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*, 47(Suppl 3), S123–6. doi:10.1086/591392
- O’Riordan, S. *et al.*, (2010). Risk factors and outcomes among children admitted to hospital with pandemic H1N1 influenza. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l’Association medicale canadienne*, 182(1), 39–44. doi:10.1503/cmaj.091724
- Oddy, W. H. (2004). A review of the effects of breastfeeding on respiratory infections, atopy, and childhood asthma. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma*, 41(6), 605–21.
- Oliveira, T. F. M. *et al.*, (2008). Prevalence and clinical aspects of respiratory syncytial virus A and B groups in children seen at Hospital de Clínicas of Uberlândia , MG , Brazil, 103(August), 417–422.
- Olofsson, S. *et al.*, (2011). PCR for detection of respiratory viruses: seasonal variations of virus infections. *Expert review of anti-infective therapy*, 9(8), 615–26. doi:10.1586/eri.11.75
- Oosterheert, J. J. *et al.*, (2005). Impact of rapid detection of viral and atypical bacterial pathogens by real-time polymerase chain reaction for patients with lower respiratory tract infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 41(10), 1438–44. doi:10.1086/497134
- Organización Panamericana de la Salud. (1995). Infecciones respiratorias agudas en las Américas. *Boletín Epidemiológico de la Organización Panamericana de la Salud*, pp. 1–5.
- Ostlund, M. R. *et al.*, (2004). Respiratory virus infections in Stockholm during seven seasons: a retrospective study of laboratory diagnosis. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 36(6-7), 460–5.
- Ottolini, M. G. *et al.*, (2002). A cotton rat model of human parainfluenza 3 laryngotracheitis: virus growth, pathology, and therapy. *The Journal of infectious diseases*, 186(12), 1713–7. doi:10.1086/345834
- Palmer, S. M. *et al.*, (1998). Community respiratory viral infection in adult lung transplant recipients. *Chest*, 113(4), 944–50.
- Panuska, J. R. *et al.*, (1990). Productive infection of isolated human alveolar macrophages by respiratory syncytial virus. *The Journal of clinical investigation*, 86(1), 113–9. doi:10.1172/JCI114672

- Papadopoulos, N. G. *et al.*, (2000). Rhinoviruses infect the lower airways. *The Journal of infectious diseases*, 181(6), 1875–84. doi:10.1086/315513
- Papenburg, J. *et al.*, (2012). Molecular evolution of respiratory syncytial virus fusion gene, Canada, 2006-2010. *Emerging infectious diseases*, 18(1), 120–4. doi:10.3201/eid1801.110515
- Parry, D. E. *et al.*, (2000). Rhinovirus-induced PBMC responses and outcome of experimental infection in allergic subjects. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 105(4), 692–8. doi:10.1067/mai.2000.104785
- Pavia, A. T. (2011). Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52 Suppl 4(Suppl 4), S284–9. doi:10.1093/cid/cir043
- Peiris, J. S. M. *et al.*, (2003). The severe acute respiratory syndrome. *New England Journal of Medicine*, 349, 2431–2441. doi:10.1056/NEJMra032498
- Peiris, J. S. M. *et al.*, (2009). Innate immune responses to influenza A H5N1: friend or foe? *Trends in immunology*, 30(12), 574–84. doi:10.1016/j.it.2009.09.004
- Pelletier, G. *et al.*, (2002). Respiratory Tract Reinfections by the New Human Metapneumovirus in an Immunocompromised Child. *Emerging Infectious Disease Journal*, 8(9).
- Peltola, V. T. e McCullers, J. A. (2004). Respiratory viruses predisposing to bacterial infections: role of neuraminidase. *The Pediatric infectious disease journal*, 23(1 Suppl), S87–97. doi:10.1097/01.inf.0000108197.81270.35
- Peltola, V. *et al.*, (2008). Rhinovirus transmission within families with children: incidence of symptomatic and asymptomatic infections. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(3), 382–9. doi:10.1086/525542
- Peng, G. *et al.*, (2003). Epidemiological study on severe acute respiratory syndrome in Guangdong province. *Chinese J of Epidemiology*, 24(5), 350–2.
- Pennings, J. L. A. *et al.*, (2011). Systemic signature of the lung response to respiratory syncytial virus infection. *PloS one*, 6(6), 1–8. doi:10.1371/journal.pone.0021461
- Pittet, L. A. *et al.*, (2010). Influenza virus infection decreases tracheal mucociliary velocity and clearance of *Streptococcus pneumoniae*. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 42(4), 450–60. doi:10.1165/rcmb.2007-0417OC

- Plotkowski, M. C. *et al.*, (1986). Adherence of type I Streptococcus pneumoniae to tracheal epithelium of mice infected with influenza A/PR8 virus. *The American review of respiratory disease*, 134(5), 1040–4.
- Prendergast, C. e Papenburg, J. (2013). Rapid antigen-based testing for respiratory syncytial virus: moving diagnostics from bench to bedside? *Future microbiology*, 8(4), 435–44. doi:10.2217/fmb.13.9
- Rakes, G. P. *et al.*, (1999). Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care. IgE and eosinophil analyses. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 159(3), 785–90. doi:10.1164/ajrccm.159.3.9801052
- Ramilo, O. *et al.*, (2007). Gene expression patterns in blood leukocytes discriminate patients with acute infections. *Blood*, 109(5), 2066–77. doi:10.1182/blood-2006-02-002477
- Reed, G. *et al.*, (1997). Epidemiology and Clinical Impact of Parainfluenza Virus Infections in Otherwise Healthy Infants and Young Children <5 Years Old. *The Journal of Infectious Diseases*, 175(4), 807–813.
- Richard, N. *et al.*, (2008). The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. *The Pediatric infectious disease journal*, 27(3), 213–7. doi:10.1097/INF.0b013e31815b4935
- Rihkanen, H. *et al.*, (2008). Respiratory viruses in laryngeal croup of young children. *The Journal of pediatrics*, 152(5), 661–5. doi:10.1016/j.jpeds.2007.10.043
- Rodriguez, W. J. *et al.*, (1987). Environmental exposure of primary care personnel to ribavirin aerosol when supervising treatment of infants with respiratory syncytial virus infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 31(7), 1143–6.
- Rohde, G. G. U. (2011). Rhinovirus vaccination: the case in favour. *The European respiratory journal*, 37(1), 3–4. doi:10.1183/09031936.00136510
- Rosychuk, R. J. *et al.*, (2010). Croup presentations to emergency departments in Alberta, Canada: a large population-based study. *Pediatric pulmonology*, 45(1), 83–91. doi:10.1002/ppul.21162
- Rothberg, M. B. e Haessler, S. D. (2010). Complications of seasonal and pandemic influenza. *Critical care medicine*, 38(4 Suppl), e91–7. doi:10.1097/CCM.0b013e3181c92eeb
- Rothberg, M. B. *et al.*, (2008). Complications of viral influenza. *The American journal of medicine*, 121(4), 258–64. doi:10.1016/j.amjmed.2007.10.040

- Rudan, I. *et al.*, (2008). Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(5), 408–416. doi:10.2471/BLT.07.048769
- Ruiz, M. *et al.*, (1999). Severe community-acquired pneumonia. Risk factors and follow-up epidemiology. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 160(3), 923–9. doi:10.1164/ajrccm.160.3.9901107
- Russell, K. F. *et al.*, (2011). Glucocorticoids for croup. *The Cochrane database of systematic reviews*, (1), CD001955. doi:10.1002/14651858.CD001955.pub3
- Ruuskanen, O. *et al.*, (1992). Pneumonia in childhood: etiology and response to antimicrobial therapy. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 11(3), 217–23.
- Ruuskanen, O. *et al.*, (2011). Viral pneumonia. *Lancet*, 377(9773), 1264–75. doi:10.1016/S0140-6736(10)61459-6
- Rylander, E. *et al.*, (1996). Wheezing bronchitis in children. Incidence, viral infections, and other risk factors in a defined population. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 7(1), 6–11.
- Sajjan, U. S. *et al.*, (2006). H. influenzae potentiates airway epithelial cell responses to rhinovirus by increasing ICAM-1 and TLR3 expression. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(12), 2121–3. doi:10.1096/fj.06-5806fje
- Sakamoto, M. *et al.*, (1984). Effect of influenza virus infection on allergic sensitization to aerosolized ovalbumin in mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 132(5), 2614–7.
- Samransamruajkit, R. *et al.*, (2008). Prevalence, clinical presentations and complications among hospitalized children with influenza pneumonia. *Japanese journal of infectious diseases*, 61(6), 446–9.
- Scalera, N. M. e Mossad, S. B. (2009). The first pandemic of the 21st century: a review of the 2009 pandemic variant influenza A (H1N1) virus. *Postgraduate medicine*, 121(5), 43–7. doi:10.3810/pgm.2009.09.2051
- Schweich, P. J. *et al.*, (1992). The use of nebulized albuterol in wheezing infants. *Pediatric emergency care*, 8(4), 184–8.
- Sears, M. R. e Johnston, N. W. (2007). Understanding the September asthma epidemic. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 120(3), 526–9. doi:10.1016/j.jaci.2007.05.047

- Secretaria de Vigilância em Saúde (Brasil). (2009). *Situação epidemiológica da Influenza Pandêmica (H1N1) 2009 no Mundo e no Brasil, até a Semana Epidemiológica 47 de 2009* (pp. 1–11).
- Segal, A. O. *et al.*, (2005). Croup hospitalizations in Ontario: a 14-year time-series analysis. *Pediatrics*, 116(1), 51–5. doi:10.1542/peds.2004-1892
- Semple, M. G. *et al.*, (2005). Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. *The Journal of infectious diseases*, 191(3), 382–6. doi:10.1086/426457
- Shi, J., e Song, J. (2006). The catalysis of the SARS 3C-like protease is under extensive regulation by its extra domain. *The FEBS journal*, 273(5), 1035–45. doi:10.1111/j.1742-4658.2006.05130.x
- Shields, A. F. *et al.*, (1985). Adenovirus infections in patients undergoing bone-marrow transplantation. *The New England journal of medicine*, 312(9), 529–33. doi:10.1056/NEJM198502283120901
- Sigurs, N. *et al.*, (2000). Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 161(5), 1501–7. doi:10.1164/ajrccm.161.5.9906076
- Singanayagam, A. *et al.*, (2012). Viruses exacerbating chronic pulmonary disease: the role of immune modulation. *BMC medicine*, 10(27), 1–12. doi:10.1186/1741-7015-10-27
- Singh, A. M. *et al.*, (2007). Bronchiolitis to asthma: a review and call for studies of gene-virus interactions in asthma causation. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 175(2), 108–19. doi:10.1164/rccm.200603-435PP
- Skoner, D. P. *et al.*, (1996). Lower airway responses to influenza A virus in healthy allergic and nonallergic subjects. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 154(3 Pt 1), 661–4. doi:10.1164/ajrccm.154.3.8810602
- Smallman-Raynor, M. e Cliff, A. D. (2007). Avian Influenza A (H5N1) Age Distribution in Humans. *Emerging Infectious Disease Journal*, 13(3). Retrieved from http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/13/3/06-0849_article.htm
- Smith, D. J. *et al.*, (2004). Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5682), 371–6. doi:10.1126/science.1097211
- Sobol, S. E. e Zapata, S. (2008). Epiglottitis and croup. *Otolaryngologic clinics of North America*, 41(3), 551–66, ix. doi:10.1016/j.otc.2008.01.012

Sociedade Portuguesa de Pneumologia. (2003). Recomendações de abordagem diagnóstica e terapêutica da pneumonia da comunidade em adultos imunocompetentes. *Rev. Port. de Pneumologia*, IX(5), 435–461.

Srinivasan, A. *et al.*, (2011). Parainfluenza virus infections in children with hematologic malignancies. *The Pediatric infectious disease journal*, 30(10), 855–9. doi:10.1097/INF.0b013e31821d190f

Stark, J. M. *et al.*, (2006). Decreased bacterial clearance from the lungs of mice following primary respiratory syncytial virus infection. *Journal of medical virology*, 78(6), 829–38. doi:10.1002/jmv.20631

Stempel, H. *et al.*, (2009). Multiple viral respiratory pathogens in children with bronchiolitis. *Acta Paediatrica*., 98(1), 123–126. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.01023.x.Multiple

Stensballe, L. G. *et al.*, (2006). Atopic disposition, wheezing, and subsequent respiratory syncytial virus hospitalization in Danish children younger than 18 months: a nested case-control study. *Pediatrics*, 118(5), e1360–8. doi:10.1542/peds.2006-0907

Subrata, L. S. *et al.*, (2009). Interactions between innate antiviral and atopic immunoinflammatory pathways precipitate and sustain asthma exacerbations in children. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(4), 2793–800. doi:10.4049/jimmunol.0900695

Syrmis, M. W. *et al.*, (2004). A sensitive, specific, and cost-effective multiplex reverse transcriptase-PCR assay for the detection of seven common respiratory viruses in respiratory samples. *The Journal of molecular diagnostics : JMD*, 6(2), 125–31. doi:10.1016/S1525-1578(10)60500-4

Tadeu, L. e Figueiredo, M. (2009). Viral pneumonia: epidemiological, clinical, pathophysiological and therapeutic aspects. *J. Bras. Pneumol.*, 35(9), 899–906.

Tan, W. C. (2005). Viruses in asthma exacerbations. *Current opinion in pulmonary medicine*, 11(1), 21–6.

Tanner, H. *et al.*, (2012). Respiratory viral infections during the 2009-2010 winter season in Central England, UK: incidence and patterns of multiple virus co-infections. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(11), 3001–6. doi:10.1007/s10096-012-1653-3

- Templeton, K. E. *et al.*, (2005). Improved diagnosis of the etiology of community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. *Clinical Infectious Diseases*, 41(3), 345–51. doi:10.1086/431588
- Thompson, W. W. *et al.*, (2004). Influenza-Associated Hospitalizations in the United States. *American Medical Association*, 292(11), 1333–1340.
- Thomsen, S. F. *et al.*, (2009). Exploring the association between severe respiratory syncytial virus infection and asthma: a registry-based twin study. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 179(12), 1091–7. doi:10.1164/rccm.200809-1471OC
- Tortorolo, L. *et al.*, (2005). Neurotrophin overexpression in lower airways of infants with respiratory syncytial virus infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 172(2), 233–7. doi:10.1164/rccm.200412-1693OC
- Trampuz, A. *et al.*, (2004). Avian influenza: a new pandemic threat? *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, 79(4), 523–30; quiz 530. doi:10.4065/79.4.523
- Tsang, K. W. *et al.*, (2003). A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *The New England journal of medicine*, 348(20), 1977–85. doi:10.1056/NEJMoa030666
- Tsolia, M. N. *et al.*, (2004). Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized school-age children: evidence for high prevalence of viral infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 39(5), 681–6. doi:10.1086/422996
- Tumpey, T. M. *et al.*, (2005). Pathogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus: functional roles of alveolar macrophages and neutrophils in limiting virus replication and mortality in mice. *Journal of virology*, 79(23), 14933–44. doi:10.1128/JVI.79.23.14933-14944.2005
- Turner, R. B. *et al.*, (1987). Pneumonia in pediatric outpatients: cause and clinical manifestations. *The Journal of pediatrics*, 111(2), 194–200.
- Tversky, J. R. *et al.*, (2008). Human blood dendritic cells from allergic subjects have impaired capacity to produce interferon-alpha via Toll-like receptor 9. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 38(5), 781–8. doi:10.1111/j.1365-2222.2008.02954.x
- Ulbrandt, N. D. *et al.*, (2006). Isolation and characterization of monoclonal antibodies which neutralize human metapneumovirus in vitro and in vivo. *Journal of virology*, 80(16), 7799–806. doi:10.1128/JVI.00318-06

Ungchusak, K. *et al.*, (2005). Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *The New England Journal of Medicine*, 352(4), 333–340.

UNICEF. Pneumonia and diarrhoea (2012).

Ustun, C. *et al.*, (2012). Human parainfluenza virus infection after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, management, mortality, and changes over time. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 18(10), 1580–8. doi:10.1016/j.bbmt.2012.04.012

Vabret, A. *et al.*, (2006). Detection of the new human coronavirus HKU1: a report of 6 cases. *Clinical infectious diseases*, 42(5), 634–9. doi:10.1086/500136

Van Benten, I. *et al.*, (2003). Predominance of rhinovirus in the nose of symptomatic and asymptomatic infants. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 14(5), 363–70.

Van den Hoogen, B. G. *et al.*, (2001). A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nature*, 7(6), 719–724.

Van den Hoogen, B. G. (2007). Respiratory tract infection due to human metapneumovirus among elderly patients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 44(9), 1159–60. doi:10.1086/513295

Van den Hoogen, B. G. *et al.*, (2007). Experimental infection of macaques with human metapneumovirus induces transient protective immunity. *The Journal of general virology*, 88(Pt 4), 1251–9. doi:10.1099/vir.0.82663-0

Van den Hoogen, B. G. *et al.*, (2004). Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerging infectious diseases*, 10(4), 658–66. doi:10.3201/eid1004.030393

Van der Hoek, L. *et al.*, (2004). Identification of a new human coronavirus. *Nature medicine*, 10(4), 368–73. doi:10.1038/nm1024

Van der Hoek, L. *et al.*,. (2006). Human coronavirus NL63 infection is associated with croup. *Advances in experimental medicine and biology*, 581, 485–91. doi:10.1007/978-0-387-33012-9_86

Van Riel, D. *et al.*, (2006). H5N1 Virus Attachment to Lower Respiratory Tract. *Science (New York, N.Y.)*, 312(5772), 399. doi:10.1126/science.1125548

Van Woensel, J. B. *et al.*, (1997). Randomised double blind placebo controlled trial of prednisolone in children admitted to hospital with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Thorax*, 52(7), 634–637. doi:10.1136/thx.52.7.634

- Vieira, R. A. *et al.*, (2010). Correlation between inflammatory mediators in the nasopharyngeal secretion and in the serum of children with lower respiratory tract infection caused by respiratory syncytial virus and disease severity. *Jornal brasileiro de pneumologia*, 36(1), 59–66.
- Village, E. G. (2006). Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics*, 118(4), 1774–93. doi:10.1542/peds.2006-2223
- Vincent, A. L. *et al.*, (2006). Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the United States. *Veterinary microbiology*, 118(3-4), 212–22. doi:10.1016/j.vetmic.2006.07.017
- Virkki, R. *et al.*, (2002). Differentiation of bacterial and viral pneumonia in children. *Thorax Journal*, 57(5), 438–41.
- Vorwerk, C. e Coats, T. (2010). Heliox for croup in children. *The Cochrane database of systematic reviews*, (2), CD006822. doi:10.1002/14651858.CD006822.pub2
- Wainwright, C. *et al.*, (2003). A multicenter, randomized, double-blind, controlled trial of nebulized epinephrine in infants with acute bronchiolitis. *The New England journal of medicine*, 349(1), 27–35. doi:10.1056/NEJMoa022226
- Wald, E. L. (2010). Croup: common syndromes and therapy. *Pediatric annals*, 39(1), 15–21. doi:10.3928/00904481-20091210-04
- Walsh, E. E. *et al.*, (2002). Clinical features of influenza A virus infection in older hospitalized persons. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(9), 1498–503.
- Walsh, E. E. *et al.*, (2005). Respiratory Syncytial Virus Infection in Elderly and High-Risk Adults Annal. *The New England Journal of Medicine*, 352(17), 1749–1759.
- Webb, M. S. *et al.*, (1985). Chest physiotherapy in acute bronchiolitis. *Archives of disease in childhood*, 60(11), 1078–9.
- Weigl, J. A. I. *et al.*, (2007). Ten years' experience with year-round active surveillance of up to 19 respiratory pathogens in children. *European journal of pediatrics*, 166(9), 957–66. doi:10.1007/s00431-007-0496-x
- Westley, C. R. *et al.*, (1978). Nebulized racemic epinephrine by IPPB for the treatment of croup: a double-blind study. *American journal of diseases of children (1960)*, 132(5), 484–7.
- Whimbey, E. *et al.*, (1993). Parainfluenza virus infection in adult bone marrow transplant recipients. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 12(9), 699–701.

- White, D. E. e Fenner, F. J. (1994). *Medical Virology* (4^a ed., p. 603). San Diego: Academic Press.
- WHO. (2004). *Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. Online 2004* (Vol. 2, pp. 1–3).
- WHO. (2005). *WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis* (p. 5). World Health Organization.
- WHO. (2009). *Acute Respiratory Infections - Respiratory Syncytial Virus (Update September 2009)* (p. 3). World Health Organization.
- WHO. (2012). New Coronavirus Identified in two patients in the EMR. *Weekly Epidemiological Monitor*, 5(39), 1.
- WHO. (2013). Pneumonia. *Pneumonia*. World Health Organization.
- Widmer, K. *et al.*, (2012). Rates of hospitalizations for respiratory syncytial virus, human metapneumovirus, and influenza virus in older adults. *The Journal of infectious diseases*, 206(1), 56–62. doi:10.1093/infdis/jis309
- Wiemken, T. *et al.*, (2012). Incidence of respiratory viruses in patients with community-acquired pneumonia admitted to the intensive care unit: results from the Severe Influenza Pneumonia Surveillance (SIPS) project. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 32(5), 705–10. doi:10.1007/s10096-012-1802-8
- Williams, J. V. *et al.*, (2006). The role of human metapneumovirus in upper respiratory tract infections in children: a 20-year experience. *The Journal of infectious diseases*, 193(3), 387–95. doi:10.1086/499274
- Wiwanitkit, V. (2013). H7N9 Influenza: The Emerging Infectious Disease. *North American journal of medical sciences*, 5(7), 395–398. doi:10.4103/1947-2714.115764
- Woo, P. C. Y., *et al.*, (2005). Clinical and molecular epidemiological features of coronavirus HKU1-associated community-acquired pneumonia. *The Journal of infectious diseases*, 192(11), 1898–907. doi:10.1086/497151
- Woo, P. *et al.*, (1997). Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. *J. Clin. Microbiol.*, 35(6), 1579–1581.
- Woods, C. R. e Bryant, K. A. (2013). Viral infections in children with community-acquired pneumonia. *Current infectious disease reports*, 15(2), 177–83. doi:10.1007/s11908-013-0324-6
- Wu, P. *et al.*, (2008). Evidence of a causal role of winter virus infection during infancy in early childhood asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 178(11), 1123–9. doi:10.1164/rccm.200804-579OC

Wyde, P. R., *et al.*, (2003). Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. *Antiviral research*, 60(1), 51–9.

Wyde, P. R., *et al.*, (2004). Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus by NMSO3 in tissue culture assays. *Antiviral research*, 63(1), 51–9. doi:10.1016/j.antiviral.2004.02.006

Xatzipsalti, M., *et al.*, (2005). Rhinovirus viremia in children with respiratory infections. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 172(8), 1037–40. doi:10.1164/rccm.200502-315OC

Xepapadaki, P., *et al.*, (2004). Human Metapneumovirus as a causative agent of acute bronchiolitis in infants. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 30(3), 267–70. doi:10.1016/j.jcv.2003.12.012

Xu, D., *et al.*, (2004). SARS-associated coronavirus quasispecies in individual patients. *The New England journal of medicine*, 350(13), 1366–7. doi:10.1056/NEJMc032421

Yorita, K. L., *et al.*, (2008). Infectious disease hospitalizations among infants in the United States. *Pediatrics*, 121(2), 244–52. doi:10.1542/peds.2007-1392

Young, N. S., e Brown, K. E. (2004). Parvovirus B19. *The New England journal of medicine*, 350(6), 586–97. doi:10.1056/NEJMra030840

Zaki, A. M., *et al.*, (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *The New England journal of medicine*, 367(19), 1814–20. doi:10.1056/NEJMoa1211721

Zhong, N., *et al.*, (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*, 362(9393), 1353–1358. doi:10.1016/S0140-6736(03)14630-2

Zhu, F.-C., *et al.*, (2009). A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age groups. *The New England journal of medicine*, 361(25), 2414–23. doi:10.1056/NEJMoa0908535